WC750
1899
M23

22101015744

M18018

WELLCOME INSTITUTE
LIBRARY

Coll	welTROmec
Call	
No.	WC750
	1899
	M23

L 156

Società per gli studi della malaria

SULLA STRUTTURA DEI PARASSITI MALARICI

E IN SPECIE

DEI GAMETI DEI PARASSITI ESTIVO-AUTUNNALI

PER

G. BASTIANELLI ed A. BIGNAMI

(con le Tavole IV e V)

Gli studi di cui riferiamo in questo articolo furono intrapresi al principio dell'estate scorsa: ne abbiamo comunicato i risultati principali nel dicembre 1898 ed ora li riportiamo con maggiori dettagli insieme ai disegni che illustrano questa descrizione. Abbiamo sentito la necessità di tornare sull'argomento della fina struttura dei parassiti malarici per una serie di ragioni che esponiamo in breve.

L'ultima nostra pubblicazione sullo stesso argomento si occupava esclusivamente dei parassiti delle febbri estivo-autunnali; essa risale a sei anni fa e le osservazioni che servirono di base ad essa furono fatte nell'estate del 1893. Da quel tempo le idee sono andate poco a poco modificandosi e i metodi di ricerca sono diventati più perfetti. Nel 1895, Sacharoff riuscì, mediante il metodo di Romanowski, a colorire i flagelli dei corpi flagellati degli uccelli, e dopo di lui il metodo di Romanowski è stato adoperato da Ziemann, cui spetta il merito di averlo perfezionato in modo da eliminare alcune delle difficoltà che ne rendevano malagevole l'applicazione. Subito dopo la pubblicazione di Ziemann apparve chiara a noi la necessità di rivedere tutto l'argomento, perchè Ziemann, lavorando col metodo di Romanowski, era giunto alla conclusione che le semilune perdono poco a poco la cromatina, in guisa che le forme adulte, di regola, ne sono sprovviste. Questo risultato, ottenuto con il metodo di Romanowski, era in contradizione evidente col risultato di Sacharoff, ottenuto con lo stesso metodo: non era ragionevole supporre che i corpi flagellati

dei parassiti degli uccelli avessero significazione e struttura diversa da quelli dei parassiti della malaria umana. Anche i flagelli provenienti dalle semilune dovevano contenere cromatina, quindi le semilune, necessariamente dovevano esserne provviste. Se a noi non era riuscito di vederla, doveva ciò dipendere dal metodo disadatto; mentre il risultato di Ziemann non poteva spiegarsi se non ammettendo una difficoltà particolare dell'oggetto in esame. Era dunque necessario di rifare lo studio, e l'interesse per noi era non solo di verificare la cosa (chè si poteva facilmente prevederne il risultato), ma anche seguire i dettagli del processo che conduce alla formazione dei flagelli.

Si aggiungeva a tutto ciò l'influenza delle idee nuove: Simond aveva affermato che i flagellati della malaria dovevano avere la stessa significazione dei suoi corpi *à chromatozoïtes,* cioè i flagelli dovevano essere considerati elementi maschili destinati alla fecondazione di elementi femminili: questa dottrina ebbe conferma dagli studi apparsi quasi contemporaneamente di Mac Callum: Mac Callum scoprì che il vermiculo di Danilewsky proviene da una forma dell'Halteridium fecondata da un flagello: egli anche osservò una volta la penetrazione di un flagello d'origine semilunare in una semiluna (corpo rotondo) immobile, ma non vide formarsi un *vermiculo.*

Stando così le cose, dovevamo rivolgere il nostro studio particolarmente alle forme del parassita malarico che non fanno parte del *ciclo febbrigeno.*

Quando abbiamo pubblicato in breve i risultati principali di questo studio, siamo stati rimproverati non solo delle nostre antiche opinioni sui corpi semilunari, ma anche ci è stato fatta, in certo modo, una colpa di averle modificate e, dove era necessario, corrette. Queste critiche han dato origine ad una polemica su cui ora non ci piace di ritornare. Vogliamo solo far notare che i nostri antichi studi sulle semilune non sono stati senza frutto. Noi, fondandoci su considerazioni principalmente cliniche, riuscimmo a liberare il terreno da una serie di opinioni sbagliate. Noi abbiamo dimostrato che le semilune sono una forma d'evoluzione del parassita delle febbri gravi, mentre medici e zoologi sostenevano che fossero un parassita a sè; abbiamo dimostrato che le semilune non sono febbrigene e che le recidive non dipendono da una moltiplicazione delle semilune, ciò che era invece sostenuto da tutti gli altri scrittori, e dai più notevoli. Su questi punti abbiamo noi soli giudicato correttamente. Poichè non vedevamo *nell'uomo* che alterazioni regressive di questi corpi, abbiamo pensato che fossero forme sterili, naturalmente per l'uomo, poichè soltanto dell'uomo ci occupavamo allora noi e gli altri studiosi della malaria. Più tardi abbiamo pensato che potessero le semilune « essere analoghe ad una fase del ciclo di sviluppo dei coccidi che non potesse terminare il suo sviluppo se non nei tessuti di un altro animale ». È vero che aggiungevamo che le semilune, secondo noi, erano una fase abortiva, sterile di questo ciclo, perchè non immaginavamo quello che hanno

H8

H8

dimostrato gli studi ulteriori sui parassiti affini e su questo. Malgrado ciò, la gente imparziale ritenne allora che le nostre idee non fossero un regresso, e non è comprensibile che ci sia ora rimproverato di non aver veduto che in parte la verità da chi, entrato per ultimo nella questione, essendo le idee mature e i metodi perfetti, poteva utilizzare l'opera degli osservatori antecedenti e quindi anche la nostra, e non aveva che una strada sola avanti a sè da seguire.

Metodo di ricerca.

Il sangue viene disteso in strato sottile al solito modo sui vetrini, fissato in alcool assoluto e colorito colla miscela di Romanowski. Non ci è stato difficile trovare le proporzioni adatte: abbiamo lavorato con un blù medicinale di Höchst da noi acquistato nel 1890, e con un blù medicinale acquistato nel 1898. L'eosina adoperata era l'*AG* di Höchst, o la *B* della stessa fabbrica. Con l'eosina *B* si hanno risultati più sicuri e i preparati riescono molto puliti. Si faceva la soluzione di blù con 10 gr. di blù in 100 di acqua e filtrando dopo 24 ore (a t. di 24°, 25° circa); per l'eosina abbiamo usato la soluzione acquosa all'1 %, sia della qualità *AG*, sia della *B*. Le soluzioni si tenevano in burette graduate in modo da avere ogni volta con sicurezza le stesse quantità dei due liquidi. La proporzione di cmc. 2 della soluzione di blù di metilene e cmc. 5 di eosina ha dato risultati costanti, tenendo il preparato nel miscuglio colorante per 20 minuti a mezz'ora nelle vaschette consigliate da Zieman.

Il metodo di Romanowski ha avuto in questi ultimi mesi molti perfezionamenti, che rendono possibile adoperare ogni qualità di blù di metilene: è pure molto importante l'aver ritrovato un buon mezzo di decolorare i preparati: ma questi miglioramenti, che dimostrano molta abilità tecnica, non sono necessari: lavorando nei modo indicato da noi, si hanno ottimi risultati e molto facilmente.

***

Per colorire i flagelli la difficoltà sta di avere dei preparati in cui i corpi flagellati siano il meno alterati che possibile. Il metodo di Sacharoff è ottimo per i flagellati degli uccelli: i flagelli si formano nei parassiti degli uccelli con grande rapidità, quindi il sangue e i parassiti debbono subire per poco tempo l'azione del vapor d'acqua, il quale, nella camera umida, si deposita sui vetrini, e rigonfia ed altera le strutture, specie la cromatina: invece i flagelli delle semilune e della terzana si formano dopo un tempo che varia da 6, a 10, 15 minuti e più, e questo basta perchè spesso i corpi semilunari si vedano già alterarsi, quando nel preparato di controllo la formazione dei flagelli occorre in modo regolare.

Nondimeno il metodo di Sacharoff non solo dà di tanto in tanto preparati eccellenti, ma certe irregolarità del processo che avvengono per questo metodo permettono di studiare alcuni dettagli che difficilmente si vedrebbero altrimenti.

Presto ci siamo convinti che il metodo di Manson non è utile al nostro scopo: colla fucsina carbolica la colorazione non è elettiva e i flagellati che si ottengono nella camera umida di Manson spesso sono alterati, come del resto appare anche dalle figure riportate dall'A. stesso.

Era dunque necessario studiare il processo nelle condizioni naturali, cioè nel sangue estratto dall' intestino medio dall'Anopheles poco dopo la puntura, e spesso siamo riusciti a ottenere buoni preparati dal sangue estratto dall' intestino dell'Anopheles mezz' ora, un' ora e più dopo la puntura. In questi preparati le figure dei parassiti sono più delicate, più fine e senza quelle alterazioni che presentano quelle ottenute nella camera umida: pertanto sono principalmente le figure ottenute con questo metodo quelle che servono alla nostra descrizione; ma figure poco diverse si possono avere adoperando un metodo che meno degli altri si allontana dalle condizioni naturali, perchè esclude l' azione del vapor d' acqua o d' ogni altro liquido. Se si fanno i preparati per strisciamento col metodo solito, ma un po' spessi, e si mettono subito in una piccola scatola di vetro ben chiusa, il sangue non si dissecca, e, almeno per pochi minuti, non si altera notevolmente. Se si toglie il vetrino della scatola quando nel preparato ordinario si cominciano a vedere i flagellati, e si dissecca, si fissa e si colora, si ottengono corpi flagellati, flagelli staccati, ecc., che poco o nulla differiscono da quelli che si osservano nel sangue estratto dall' intestino dell'Anopheles.

***

La descrizione del *ciclo febbrigeno* dei parassiti malarici sarà qui esposta assai in breve, perchè il risultato delle nostre osservazioni è a un dipresso identico a quello delle osservazioni di Romanowski e di Zieman; sicchè riteniamo opportuno passar sopra a molti dettagli, i quali sono esposti diffusamente negli scritti degli autori suddetti. Ci fermeremo sopratutto sopra un punto: quale parte, tra gli elementi costituenti questi parassiti, si debba considerare come nucleo. Come è noto, nei preparati disseccati e colorati col metodo di Romanowski, o con l' ematossilina, l' ameba non pigmentata è fatta da un anello protoplasmatico e da un corpicciuolo colorato in rosso (col metodo di Romanowski) o in blù forte con l' ematossilina, il quale rappresenta la cromatina nucleare. Lo spazio rinchiuso dall' anello blù lascia trasparire il globulo rosso. Questo spazio nelle forme giovani, specie delle febbri estive, è assai ampio: il corpic-

ciuolo di cromatina di rado si trova dentro questo spazio trasparente, ma il più delle volte nella parte più sottile dell'anello protoplasmatico, apparentemente nella estremità dell'anello stesso, e talora sporge all'esterno. Come si è detto, sta apparentemente nella continuità dell'anello; infatti in molti individui si vede che è separato dall'anello protoplasmatico da un alone chiaro, il quale appare con maggiore evidenza se il sangue, tenuto in camera umida, ha subìto l'azione del vapor d'acqua. Questo alone chiaro è più evidente nello sviluppo ulteriore: accade allora di vedere individui in cui l'alone chiaro ha tale sviluppo da avere l'aspetto di una vescicola. Quale delle parti ora descritte è il nucleo del parassita? Si ammette in genere che il grosso spazio vuoto, che nei preparati disseccati lascia trasparire il globulo rosso, sia il nucleo. A noi pare più verosimile che questo spazio sia realmente quello che appare, cioè uno spazio vuoto, un vacuolo; infatti qualche volta esso contiene dei pezzetti di globulo rosso più scuri, di color tendente all'ottone, ciò che non si capirebbe se esso fosse un nucleo vescicolare. Secondo noi, il nucleo sarebbe costituito dal corpicciuolo di cromatina e dall'alone chiaro che lo circonda. Che il nucleo infatti non sia quell'enorme vacuo che si vede nelle forme giovani si capisce anche da questo, che quando la cromatina si divide (ciò si vede bene nella terzana), ogni corpicciuolo prodotto dalla divisione è separato dal protoplasma fortemente tinto in blù da un alone chiaro identico del tutto a quello che si vede attorno al corpicciuolo di cromatina non ancora diviso: dippiù nei corpi adulti, che non si moltiplicano, il nucleo rimane assai piccolo, non troppo più grande dell'alone chiaro cui noi diamo il significato di succo nucleare.

Così il parassita giovane endoglobulare differisce dalla così detta spora matura anche per la presenza del vacuolo. La spora infatti ha un corpicciuolo di cromatina, un alone chiaro attorno a questo ed un anello di protoplasma.[1] Nel parassita giovane endoglobulare persistono queste parti poco modificate; ma il protoplasma ha acquistato la mobilità e contiene un grosso vacuolo. Le nostre figure della terzana fanno vedere bene questi fatti e ad esse rimandiamo il lettore.

Nella fase riproduttiva il protoplasma cresce di volume, ed il vacuolo non è più visibile: la cromatina, che nelle prime fasi ha l'aspetto d'un blocco serrato, si vede fatta di fili molto ravvici ati. Come dice Ziemann, questo aspetto della cromatina preludia alla moltiplicazione, la quale avviene per una divisione successiva della cromatina: i nuclei di divisione sono dispersi per il protoplasma e (nella terzana) si circon-

---

[1] Cfr. *I nostri studi sull' infezione malarica,* 1894, Tav. 1ª.

dano di un alone chiaro, il quale è poco visibile nelle febbri estive: quando la moltiplicazione è compiuta, nei corpicciuoli di cromatina l'aspetto filiforme è meno evidente e si differenzia attorno ad essi nucleo e protoplasma: la spora in questo stadio è capace di penetrare nei globuli rossi. Attorno al pigmento rimane un piccolo residuo che non ha preso parte alla segmentazione.

Questa è in poche parole la struttura del parassita nel ciclo di vita che si compie nell'uomo: questo ciclo di vita è stato da noi chiamato il ciclo febbrigeno perchè è quello che determina gli accessi febbrili, e sempre abbiamo distinte le forme di questo ciclo dalle forme non febbrigene da noi considerate *per l'uomo* sterili, e di cui ora soltanto conosciamo l'evoluzione ulteriore. Il ciclo febbrigeno secondo le nomenclature introdotte recentemente per esseri analoghi, può chiamarsi anche il *ciclo delle generazioni endogene:* si compie senza fenomeni sessuali e i prodotti della moltiplicazione sono destinati all'infezione esclusiva dell'uomo.

***

Il *ciclo non febbrigeno dei parassiti della malaria nell' uomo* (Gameti). — Le forme di questo ciclo compiono nell'uomo soltanto la prima fase del loro sviluppo fino alla maturazione: i fenomeni sessuali e lo sviluppo ulteriore si compiono nella cavità intestinale e nelle pareti dell'intestino degli Anopheles.

Qui descriveremo solo i gameti delle febbri estive, le semilune: abbiamo descritto già i gameti terzanari in una nota che appare anche in questo volume, e per evitare ripetizioni rimandiamo ad essa il lettore: i dati che abbiamo per la quartana sono ancora insufficienti e dobbiamo attendere il risultato di studi in corso.

Le forme del ciclo non febbrigeno delle febbri estive originano nel midollo delle ossa. — Nel midollo delle ossa si trovano semilune in tutti gli stadi di sviluppo, ma le forme giovani prevalgono. Nel sangue circolante (meno i casi di perniciosa) si trovano praticamente solo le forme adulte, nella milza anche forme giovani, ma le più piccole tra queste, e in quantità non paragonabile, si trovano nel midollo delle ossa soltanto. È giusto dunque ritenere che le semilune (come abbiamo stabilito altrove) si formano nel midollo delle ossa.

Evidentemente alla fase pigmentata deve precedere una fase senza pigmento: questa fase è del tutto identica a quella non pigmentata del ciclo febbrigeno?

Quantunque abbiamo rivolta l'attenzione a questo punto, non possiamo dare una risposta a questa domanda. Le forme più piccole, che possiamo dire con certezza che appartengono alla fase semilunare, sono già pigmen-

tate, anzi contengono relativamente molto pigmento quando il loro volume è di poco maggiore di quello dei piccoli anelli: se dunque la semiluna in principio poco differisce dalla comune ameba, presto si differenzia ed assume caratteri morfologici e biologici particolari.

Da queste forme giovanissime, che possiamo riconoscere con certezza come d'origine semilunare, comincia la nostra descrizione. Sono grandi poco più di un'ameba senza pigmento, o con granulini, hanno contorno netto, rifrangenza più forte e caratteristica: il pigmento è disseminato o raccolto in gruppi di aghi del tipico aspetto di quelli che si vedono nelle semilune adulte. Il pigmento aumenta col crescere del parassita, ma non in tutti gli individui in quantità eguale, sicchè si hanno in fine semilune con molto pigmento e semilune con poco pigmento. Nei preparati colorati (che si possono ottenere sezionando il midollo delle costole una mezz'ora dopo l'esito letale, negli individui morti di perniciosa subito dopo l'ingresso all'ospedale) con l'ematossilina, il corpo semilunare giovane prende un colorito bleu un po' più forte alla periferia, ed al centro è molto pallido; col metodo di Romanowski il corpo protoplasmatico si colora in blù pure più intensamente alla periferia e nella parte pallida sta la cromatina in forma di bastoncelli più o meno vicini: questa disposizione della cromatina a cromosomi distinti è costante nelle semilune, mentre nei parassiti dell'altro ciclo solo nelle fasi di moltiplicazione si può riconoscere che la cromatina è fatta di filamenti. La semiluna, col crescere, acquista man mano la forma caratteristica: l'aumento del volume è principalmente della parte protoplasmatica; aumenta il numero dei bastoncelli di cromatina; il pigmento dapprima disseminato si raccoglie verso il centro e circonda la parte pallida che contiene la cromatina e che vedremo essere il nucleo. Il quale, così, è nascosto dal pigmento, in guisa che nei preparati ordinari, eccezione fatta per quegli individui nei quali la cromatina rimane eccentrica (vedi alcune figure di Ziemann), la cromatina si vede con difficoltà anche avendo colorazioni buone.

Ma se si dissecca e si colora il preparato dopo che è rimasto in camera umida per qualche minuto, il pigmento si allontana alquanto e rimane scoperta al centro della figura una vescicola chiara contenente la cromatina: questa vescicola è il nucleo; esso non si vede in tutte le sue parti nei preparati ordinari a causa del disseccamento, ma si mette in evidenza con l'azione del vapor d'acqua.

Grassi e Feletti avevano adoperato l'acqua distillata per vedere il nucleo dei parassiti della malaria e con questo mezzo l'avevano veduto anche nelle semilune. L'azione dell'acqua rigonfia anche la cromatina.

Nei preparati ordinari non si riesce a vedere differenze tra i corpi se-

milunari: sembrano, come a fresco, tutti eguali salvo che taluni *pare* contengano più cromatina; ma le differenze si scuoprono quando il preparato è tenuto in camera umida, o è conservato per alcuni minuti in scatola chiusa.

In alcuni individui si vedono le modificazioni che conducono alla formazione dei flagelli; la struttura degli altri dimostra che non sono destinati a formare microgameti; sono quelli che noi riteniamo elementi femminili.

Formazione dei flagelli (*microgameti*). — Il corpo parassitario diventa rotondo, il pigmento si disperde, non si distingue il contorno del nucleo; nel mezzo della figura si vedono 4, 5 o 7, od 8 cromosomi piuttosto voluminosi (notare nelle figure la differenza di volume dei cromosomi e dei flagelli tra quelle disegnate dai preparati ottenuti in camera umida e quelle disegnate dai preparati fatti col sangue contenuto nell' intestino dell' Anopheles). I cromosomi si portano alla periferia del parassita e da ciascuno di essi origina un filamento lungo e sottile. In qualche individuo la cromatina prende la forma di filamento dentro il corpo del parassita (v. fig. 3, Tav. IV): sebbene queste figure rappresentino una condizione normale, cioè che è assai probabile, perchè le abbiamo vedute in preparati fatti dal sangue contenuto nell' intestino di Anopheles, non confermano interamente l' opinione di Manson il quale sostiene che i flagelli sono preformati nel corpo del parassita, donde poi fuoriescono: infatti, come vedremo, i flagelli completi non sono costituiti di sola cromatina. Ma evidentemente la constatazione di questo fatto (cioè della presenza di lunghi filamenti di cromatina entro ai corpi rotondi) che è, del resto, accidentale, non ha alcuna importanza generale; la regola è che il filamento si forma dai cromosomi che si sono portati alla periferia del parassita, come accade in alcuni dei coccidi studiati da Simond, da Schaudin e Siedlecki. È necessario pensare che tutti questi fenomeni, come il movimento dei cromosomi e la formazione dei flagelli, debbono dipendere da uno stimolo che è determinato nel parassita dal cambiamento delle condizioni fisiche, infatti si osservano ogni volta che il sangue esce da vasi, sia che rimanga sotto un vetrino, sia che penetri nella cavità intestinale di una zanzara: *tale stimolo agisce soltanto sui parassiti maturi,* perchè niente si osserva di paragonabile nelle semilune non mature, all' infuori di un po' di rigonfiamento della cromatina.

Il protoplasma prende parte alla formazione dei flagelli: non si può pensare che i flagelli, uscendo, trascinino con sè un po' di protoplasma, ma la parte che il protoplasma prende al fenomeno è anche essa attiva; il protoplasma si mette in movimento insieme alla cromatina e prende la forma di un filamento dentro il quale penetra un filo di cromatina. La

cosa è dimostrata da alcune figure che si vedono nei preparati fatti col mezzo della camera umida (fig. 35, Tav. IV): sono figure di individui nei quali la formazione dei flagelli è riuscita, per così dire, a metà; infatti, in queste, mentre i cromosomi ben colorati son rimasti al centro della figura, il protoplasma per sè solo costituisce i filamenti, i quali sono così regolari che non è ragionevole supporre siano un prodotto artificiale, accidentale, dovuto al metodo di preparazione soltanto: così si possono avere flagellati i quali hanno un flagello o più contenente la cromatina ed altri soltanto protoplasma. Come si vede, il metodo di Sacharoff, malgrado taluni inconvenienti, mostra con chiarezza alcune particolarità che sfuggirebbero altrimenti.

Il flagello (microgamete) ha pertanto una struttura complessa: è costituito da un filo di cromatina circondato da uno strato sottile di protoplasma che si prolunga alle due estremità. La presenza del protoplasma è, secondo noi, costante, perchè anche i flagelli che sembrano fatti solo di cromatina (e così appaiono nei preparati fatti col metodo nostro e in quelli ottenuti dal sangue succhiato da Anopheles) presentano in alcuni punti interrotto l'asse di cromatina; allora si vede che la continuità del filo è mantenuta da una sostanza debolmente colorata in blù roseo.

Concludendo, il microgametocito maturo presenta i seguenti caratteri. Abbondante cromatina in forma di cromosomi ben divisi in numero di 4 o più, ciascuno dei quali divien l'asse di un microgamete, *protoplasma che si colora in blù pallidissimo:* avvenuta la formazione e il distacco dei flagelli, rimane una sfera pigmentata pallida, che non contiene più cromatina; questa è dunque completamente utilizzata per la formazione dei microgameti.

I corpi che non si flagellano (macrogameti) conservano la forma semilunare o fusata nei preparati in cui l'azione del vapor d'acqua poco si è fatta sentire, nei preparati fatti col metodo immaginato da noi ed in quelli ottenuti dal sangue succhiato dall'Anopheles un'ora e più dopo la puntura. Invece nei preparati ordinari a fresco le semilune mature poco a poco finiscono la maggior parte per diventar rotonde, e Mac Callum ha veduto la penetrazione di un flagello in un corpo rotondo immobile.

La forma rotonda in questo caso può essere stata un prodotto della preparazione; e così pensiamo, non solo per il fatto ora riferito che nei preparati fatti in condizioni opportune i corpi che non si flagellano conservano la forma fusata, ma anche perchè sappiamo che nelle pareti intestinali dell'Anopheles la semiluna nella prima fase del suo sviluppo ha ancora forma fusata.

In questi corpi la cromatina è in quantità assai minore che non nei

microgametociti: essa si trova al centro del nucleo ed ha la forma di un piccolo granulo; il nucleo è circondato dal pigmento: il protoplasma è più fortemente colorato in blù che non quello dei microgametociti.

Sulla significazione di questi corpi si potrà dare il giudizio definitivo soltanto quando sarà constatata la penetrazione di un flagello in uno di essi, possibilmente in un preparato colorato nel quale si possano facilmente riconoscere i caratteri di struttura sopra descritti; ma fin da ora a noi pare si debba ritenere che siano gli elementi femminili, i macrogameti. Essendo necessario, per le conoscenze collaterali, ammettere la esistenza di fenomeni sessuali in questi esseri, ed essendo riconosciuti con certezza quali sono gli individui maschili, nessuno potrà negare che i corpi di cui abbiamo dato ora i caratteri morfologici, i quali dimostrano differenze così marcate da quelli, siano gli individui femminili, i macrogameti: le loro differenze dai microgametociti sono, lo ripetiamo, *nella forma,* che è fusata, *nella quantità di cromatina,* che è minore e di aspetto differente, *nella colorabilità del protoplasma,* che è maggiore di quella degli elementi maschili. Così abbiamo determinato i caratteri degli individui sessuali.

A definire completamente i caratteri sessuali dei macrogameti rimane un punto non risoluto, su cui vogliamo trattenerci un poco. Fino dai primi studi di Marchiafava e Celli risultò che tanto i corpi flagellati come i corpi che non si flagellano (corpi rotondi) emettono delle piccole sfere jaline, le così dette gemmule, la cui significazione è rimasta incerta. Nei preparati fatti col metodo di Romanowski si vede che tali gemmule sono fatte di una sostanza che si colora in rosso carminio e che è cromatina. *Solo in via eccezionale* si vedono gemmule accanto ai flagellati, quasi sempre accanto ai corpi di forma semilunare o no, i quali non si flagellano e che presentano tutti i caratteri dei macrogameti: nei preparati tenuti in camera umida si vedono principalmente tali gemmule, più di rado in quelli fatti col metodo che solo impedisce il disseccamento del sangue, e, fino ad ora, nel sangue cavato dall' intestino di Anopheles dopo 1 o 2 ore dalla puntura non ne abbiamo vedute. Più a lungo sono rimasti i vetrini in camera umida e più facile è di vedere questa cromatina rigonfia accanto alle semilune. I nostri disegni, nei quali si vedono tali gemmule (fig. 28, 29, Tav. IV), sono tutti fatti da preparati tenuti in camera umida; come si vede, esse si trovano accanto a semilune non alterate, talune anche endoglobulari.

Come va interpretata la fuoriuscita di cromatina dal nucleo?

L' ipotesi più seducente sarebbe di considerare questo fatto come un fenomeno di epurazione nucleare, nè a considerarlo tale mancherebbero le analogie.

Nell' *Adelea ovata* il macrogamete maturo perde una parte della cromatina nucleare, e la cromatina espulsa degenera alla superficie del coccidio dove si riconosce come una massa irregolare che si colora assai fortemente. Per l' *Adelea ovata* l'espulsione della cromatina è considerata come un' epurazione nucleare. Per i macrogameti semilunari, una serie di ragioni non permettono di arrischiare un' opinione. Il fatto che tale fenomeno si vede con maggior frequenza con quei metodi di preparazione che sono più lontani dalla condizione naturale, e non si vede invece nei preparati fatti col sangue contenuto nell' intestino della zanzara, fa nascere il sospetto che si possa trattare di un prodotto artificiale: innanzi a questo sospetto è necessario ripetere le osservazioni nelle condizioni in cui accadono naturalmente i fenomeni sessuali, prima di avanzare un' opinione.

La fecondazione di questi esseri si deve compiere nella cavità intestinale dell' Anopheles: come si è detto, malgrado un numero rilevante di esami a fresco e di preparati colorati, non siamo ancora riusciti a constatare *de visu* il fenomeno della penetrazione del flagello in una semiluna.

Pare pertanto che la constatazione del fatto sarà meno difficile quando si abbia un sangue eccezionalmente ricco di semilune, ciò che ancora non ci è successo: ma nei preparati fatti qualche tempo dopo la puntura si vedono alcuni corpi, su cui richiamiamo l' attenzione, perchè potrebbero essere i macrogameti fecondati. Abbiamo veduto che i corpi da noi ritenuti come macrogameti hanno il pigmento raccolto a cerchio attorno al nucleo e un nodetto di cromatina; sappiamo da altri studi che il macrogamete, nelle prime fasi dello sviluppo nelle pareti dell' intestino dell' Anopheles, quando ha la forma fusata ed il nucleo unico, ha il pigmento alla periferia e spesso disperso.

Ora ci accade spesso di vedere, e li abbiamo disegnati, nei preparati di sangue succhiato da Anopheles, dei corpi di forma fusata, con protoplasma molto colorato dal blù e due corpicciuoli di cromatina di grandezza a un dipresso eguale. *Il pigmento è disseminato* pel protoplasma: si può pensare che siano macrogameti in cui è avvenuta la penetrazione del nucleo maschile, ma la fusione dei due nuclei non sia ancora avvenuta (fig. 42, 43, Tav. IV) In altri preparati (di cui per ora non possiamo dare i disegni) abbiamo trovato corpi fusati col pigmento disperso alla periferia del parassita ed una massa di cromatina, voluminosa, ad uno dei poli.

La somiglianza di questo con le prime fasi di sviluppo delle semilune nell' Anopheles è tale da far sospettare che siano realmente i macrogameti fecondati.

Come abbiamo accennato nella descrizione, rimangono alcuni punti oscuri della struttura delle semilune. Le semilune originano dalle generazioni endogene del parassita dopo che queste hanno compiuto un certo numero (uno o due) di cicli: man mano che diminuisce la capacità del parassita a moltiplicarsi nell' uomo, un numero sempre maggiore di individui prodotti dalla moltiplicazione si avvia per il ciclo semilunare.

Sarebbe molto interessante seguire le modificazioni che subisce la spora per arrivare a quelle forme, pure assai piccole, che riconosciamo con certezza come semilune giovani, le quali, malgrado la piccolezza loro, già indicano un grado avanzato di sviluppo e di differenziazione: così sarebbe importante stabilire con precisione come avviene la differenziazione sessuale: come abbiamo detto, nei preparati ordinari non ci riesce di vedere differenze notevoli tra le semilune, e le giovani forme del midollo delle ossa hanno tutte struttura, a un dipresso, eguale.

Dunque nuovi studi sono necessari ancora a definir bene questo argogomento: quantunque di poca importanza in confronto alle grandi questioni che sono state oggetto dello studio di questi ultimi anni, non sarà senza interesse avere completa la storia dello sviluppo dei gameti dei parassiti delle febbri estive, oggetto di tanta curiosità e di tante controversie fino dai primi studi sulla malaria.

Letteratura.

Celli e Guarnieri. *Studi sull' etiologia della malaria* (*Atti della R. Accademia Medica di Roma,* 1888).

A. Bignami. *Ricerche sulla anatomia patologica delle perniciose* (*Atti della R. Accademia medica di Roma,* 1889).

A. Bignami e G. Bastianelli. *Osservazioni sulle febbri malariche estivo-autunnali* (*Riforma medica,* 1890).

Grassi e Feletti. *Contribuzione allo studio dei parassiti malarici* (*Atti della Accademia Gioenia di scienze naturali in Catania,* vol. V, ser. IV, 1892).

Mannaberg. *Die Malariaparasiten.* Wien, Hölder, 1893.

D. Romanowski. *Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria* (*St-Pétersb. Medic. Wochensch.,* n. 34 e 35, 1891).

G. Bastianelli, A. Bignami. *Studi sull' infezione malarica* (*Bull. della R. Accademia medica di Roma,* 1894)

Thayer and Hewetson. *The malarial fevers of Baltimore* (*The Johns Hopkins Press,* 1895; vedi l' *Appendix*).

R. Sacharoff. *Ueber die selbstständige Bewegung der Chromosomen bei Malariaparasiten* (*Centr. F. Bacteriologie,* 1895).

P. Manson. *A method of staining the Malaria Flagellated Organism* (*Brit. Med. Journ.,* 1897).

H. Ziemann. *Ueber Malaria und andere Blutparasiten.* Jena. G. Fischer, 1898.

Parassiti delle febbri estivo autunnali.

L. Bordoni, dis.

Lit. L. Salomone Roma

J. Bardzki, dis.

Lit. L. Salomone. Roma

G. Bastianelli. A. Bignami. *Intorno alla struttura delle forme semilunari e dei flagellati* (*Annali di medicina navale,* 1898).

Simond. *Annales de l'Institut Pasteur,* 1897.

J. Schaudinn und M. Siedlecki. *Verand. der Deut. Zoolog. Gesellschaft,* 1897.

Siedlecki. *Étude cytologique et cycle évolutif de Adelea ovata Schneider* (*Annales de l' Institut Pasteur,* 1899).

Mac Callum. *On the Haematozoan Infection of Birds* (*The Journal of experim. medicine,* 1898).

Dr. Zettnow. *Romanowsky's Färbung bei Bacterien Zeitsch. f. Hygiene,* Bd. XXXVI, H. 1.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Tavola IV.

Fig. 1-17. Ciclo febbrigeno dei parassiti estivo-autunnali.

Fig. 18-27 e fig. 30. Varie fasi dello sviluppo delle semilune (midollo delle ossa in un caso di perniciosa; preparati fatti mezz' ora dopo la morte).

Fig. 28-29. Semilune in cui parte della cromatina è fuoruscita (preparati in camera umida).

Fig. 36-39 e fig. 46. Formazione dei microgameti (camera umida min. 15).

Fig. 31, 32, 33, 34, 40 e 41. Formazione dei microgameti (Sangue estratto dall' intestino di Anopheles un' ora e mezzo dopo il succhiamento di sangue semilunare).

Fig. 35. Microgametocito con filamenti protoplasmatici (formazione incompleta dei flagelli, v. testo).

Fig. 45. Macrogamete (preparato in camera umida).

Fig. 42. Macrogamete (sangue succhiato da Anopheles).

Fig. 43-44. Macrogameti contenenti *due* corpicciuoli di cromatina (sangue succhiato da Anopheles, v. testo).

Tavola V.

Fig. 1-9. Parassita della quartana.

Fig. 10-12 e 14-18. Ciclo febbrigeno della terzana. — Fig. 13 e 19-23. Gameti terzanari. — Fig. 22 *bis*. Microgamete libero (preparati in camera umida).

CICLO EVOLUTIVO DELLE SEMILUNE

NELL' " ANOPHELES CLAVIGER „

ed altri studi sulla malaria dall'ottobre 1898 al maggio 1899

DI

B. GRASSI — A. BIGNAMI — G. BASTIANELLI

(con le Tavole VI e VII)

Dall' ottobre 1898 al maggio 1899 abbiamo fatto una serie di ricerche sulla malaria. Aderendo al desiderio della Società, che ci ha fornito i mezzi pecuniari di studio, riuniamo nella presente nota i risultati ottenuti e già da noi accennati in una serie di note preliminari apparse nei Rendiconti dell'Accademia dei Lincei.

***

Nutall ha recentemente pubblicato una storia molto minuziosa [1] delle più moderne ricerche sulla malaria, e noi qui non potremmo far altro che una ripetizione inutile.

***

Le nostre ricerche erano dirette:

1° a determinare quali tra le specie di culicidi dichiarate sospette da Grassi fossero veramente capaci di propagare la malaria;

2° a seguire il ciclo completo di sviluppo di questi esseri nell' insetto ematofago appropriato per la loro propagazione;

3° a verificare se la malaria dell' uomo può essere trasmissibile da uomo ad uomo per mezzo di questi insetti.

Le nostre ricerche sono cominciate in ottobre; interrotte per breve tempo, furono riprese nel novembre; dopo una serie di tentativi riuscimmo a produrre in un uomo che non aveva mai sofferto di malaria una terzana comune con le punture di *Anopheles claviger* presi in camere di individui malarici.

---

[1] *Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.* I. Abth., XXV. Bd. 1899, n. 5-10.

L' esperimento, fatto in condizioni tali da escludere ogni errore, ci dava già un importante risultato: alcuni giorni prima eravamo riusciti a vedere le fasi di sviluppo delle semilune fino al 4° o 5° giorno in *Anopheles claviger,* che avevano punto individui, il cui sangue presentava soltanto corpi semilunari. Contemporaneamente potemmo vedere le stesse fasi di sviluppo in *Anopheles claviger* catturati nelle abitazioni di individui malarici.

Questi fatti dimostravano che nell'*Anopheles claviger* si compie il ciclo extra-umano dei parassiti delle febbri estivo-autunnali e di quelli della terzana comune: data questa dimostrazione, ci siamo valsi a preferenza dell'*Anopheles claviger,* che d'ora in avanti per brevità diremo Anofele, per le ricerche metodiche successive.

***

Premettiamo alcune notizie sui metodi di ricerca.

1° *Cattura delle zanzare.* — Gli Anofeli sono stati catturati nelle abitazioni, nelle stalle, nei pollai, nelle cantine ed anche nelle grotte.

La cattura si fa facilmente mediante le comuni provette, o tubi d'assaggio di vetro.

Gli Anofeli fermi sulle pareti, sui soffitti, ecc. si coprono colla provetta; una volta entrati nel tubo se ne chiude con un dito l'apertura e poi si fanno passare in un vaso più grande coperto di garza; nel centro di questa garza è praticato un foro che si chiude con un po' di bambagia. Così è facile raccogliere gli Anofeli senza sciuparli e trasportarli anche a grande distanza.

Tenendo le larve di Anofele in una camera chiusa si ottengono facilmente molti individui adulti, che già due o tre giorni dopo che si sono schiusi pungono avidamente.

2° *Modo di far pungere gli Anofeli.* — Per far pungere gli Anofeli si applica una provetta contenente uno di essi sulla pelle del malato. In questo modo l'Anofele digiuno punge con facilità nelle camere del laboratorio tenute a temperatura conveniente. Così si può stabilire con precisione il momento in cui avviene l'infezione; appena l'insetto ha punto, si pone nel termostato a 30°- C circa in un vaso piuttosto grande coperto di garza, avendo cura di aggiungere qualche filo d'erba e di far cadere sul fondo per mezzo di un cannello di vetro, in modo da non bagnare le zanzare, qualche po' d'acqua.

Non solo l'*A. claviger,* ma anche le altre specie di *Anopheles* che si trovano in Italia e che sono state tutte da noi provate, hanno punto volentieri, quando fu usato il procedimento suddetto. Non così è avvenuto per i *Culex;* i quali in inverno e in primavera hanno punto raramente,

anche se sono stati lasciati liberi in una camera spaziosa e ben riscaldata.

Quando l'Anofele ha digerito, il che avviene dopo 2, 4 o più giorni secondo la temperatura dell' ambiente, e precisamente dopo circa 2 giorni alla temperatura predetta di 30°, deve essere di nuovo nutrito col metodo indicato.

In principio contemporaneamente alle prove sui malarici facevamo sempre il confronto con Anofeli tenuti nelle stesse condizioni, ma nutriti col sangue di individui sani; solo dopo essere arrivati a conoscere con precisione a quale grado di sviluppo erano giunti i parassiti malarici dopo determinati periodi di tempo, abbiamo fatto a meno degli esemplari di controllo.

Esame delle zanzare. — È preferibile di esaminare l'intestino quando è vuoto di sangue. È facile estrarre l'intestino medio (nel quale appunto per lo più - sopratutto nei due terzi posteriori - si trovano i parassiti malarici) dal corpo della zanzara cloroformizzata. Si può esaminare a fresco o in soluzione acquosa di cloruro di sodio (0. 75 °/₀) o in formalina diluita coll' acqua (2-5 °/₀). È più agevole l' esame in formalina. Come metodo di fissazione raccomandiamo sopratutto il sublimato alcoolico-acetico; come metodo di colorazione abbiamo adoperato il carminio boracico, l' emallume, l' ematossilina di Böhmer, l' ematossilina ferrica di Heidenhain, commisti o no coll' eosina.

Se si colora l' intestino *in toto,* specialmente col metodo di Heidenhain, la tinta dell' epitelio impedisce o rende malagevole l' esame dei parassiti.

Per ovviare a questo inconveniente si può spaccare con una forbice sottile l' intestino per il lungo e quindi far cadere l' epitelio, scuotendo i frammenti nei vari liquidi, o strisciandovi sopra con un pennello.

Rimangono così isolate la tunica anista sotto-epiteliare e quella muscolare insieme cogli sporozoi malarici. Si può anche lasciare per un certo tempo l'intestino in formalina sopra un porta-oggetti coperto dal copri-oggetti. Accade allora spesso che distaccando il copri-oggetti dal porta-oggetti l' intestino resti metà su un vetro e metà sull' altro. Allora col pennello si riesce a far cadere l' epitelio. Quest' ultimo procedimento è raccomandabile per studiare gli sporozoi parassiti, quando sono piccoli.

Quando si colora col carminio e coll' ematossilina Böhmer, si ottengono preparati abbastanza buoni anche coll' intestino intiero.

Si può ricorrere anche alle sezioni degli Anofeli *in toto.*

Abbiamo applicato il metodo di Romanowsky allo studio degli sporozoiti maturi. Si estrae l' intestino in soluzione fisiologica di cloruro

sodico e con una leggera pressione si fanno scoppiare gli sporozoi maturi: allora si diffonde pel liquido della preparazione un'enorme quantità di sporozoiti liberi.

Si raccoglie una goccia di questo liquido su un vetrino porta-oggetti, si fa disseccare e si fissa in alcool assoluto per 25 minuti.

La colorazione si fa nel modo solito, adoperando le soluzioni dei colori nelle stesse proporzioni che per il sangue (soluzione satura di azzurro di metilene medicinale cm^3 2, eosina cristallizzata B 1 $^0/_0$ cm^3 5): dopo mezz'ora o tre quarti d'ora si hanno i preparati perfettamente colorati: la cromatina nucleare prende il colore rosso-carminio, il protoplasma un colore azzurro o azzurro-roseo.

***

Veniamo ai fatti. Cominciamo collo stabilire che i parassiti malarici nelle pareti intestinali degli Anofeli crescono e si riproducono una sola volta.

Tenendo presente la scoperta di MacCallum, il quale ha osservato la fecondazione di un corpo rotondo immobile di origine semilunare per mezzo di un così detto flagello, e osservando che gli Anofeli non s'infettano, se non quando si trovano nel sangue corpi semilunari, devesi indurre che nel corpo dell'*Anopheles* si sviluppa la forma semilunare (s'intende, fecondata).

Ciò è dimostrato ad evidenza dallo studio del pigmento che si riscontra nelle fasi giovani dei parassiti in via di sviluppo nel corpo degli Anofeli.

Nelle tavole annesse a questo nostro lavoro sono riprodotti appunto i vari stadi di sviluppo dello sporozoo malarico nelle pareti intestinali. Nella tavola VI le figure 1-8 rappresentano in ordine progressivo le forme che assume il parassita da 40 a 48 ore fino a 8-9 giorni da che trovasi nelle pareti intestinali dell'Anofele, sempre, s'intende alla temperatura di 30°. Esso si presenta così, com'è figurato, se viene osservato in formalina.

Lo stadio rappresentato dalla fig. 1 è stato trovato dopo 40 ore, dopo circa 48 ore i quattro stadi rappresentati dalla fig. 2, dopo circa 3 giorni lo stadio rappresentato dalla prima delle quattro fig. 3, dopo 4 giorni gli stadi rappresentati dalle tre altre fig. 3 e dalla fig. 4, dopo 5 giorni gli stadi rappresentati dalla fig. 5, dopo 6 giorni lo stadio rappresentato dalla fig. 6, dopo 7-8 giorni gli stadi rappresentati delle fig. 7-8.

Non occorre qui darne una descrizione particolareggiata, ma ci limitiamo soltanto a far rilevare alcuni punti principali.

I. I parassiti sono trasparenti, lucenti.

II. Il pigmento in principio sta nettamente alla periferia, disposto a cerchio quasi completo come nella semiluna. Più tardi (fino al 4° giorno compreso) si dispone per lo più in un mezzo cerchio, quasi a lettera S, ecc. Successivamente appare in minor quantità, e risulta di corpicciuoli molto fini e molto delicati, mentre negli stadi precedenti si presentava facilmente almeno in parte raggruppato in piccole masse.

III. A cominciare dal 3° giorno possono comparire dei corpicciuoli molto rifrangenti e splendenti, che man mano crescono di numero, conservandosi però sempre relativamente non abbondanti (tav. VI, fig. 6). Questi corpicciuoli sono tutti tondeggianti, benchè di differenti dimensioni; più tardi se ne trovano anche altri in forma di bastoncello o irregolare. Si può dubitare che questi ultimi non siano però della medesima natura di quelli tondeggianti, benchè l' aspetto di taluni di essi sia del tutto eguale.

IV. I parassiti appaiono circondati da una capsula anista e sottile. Questa capsula in alcune delle nostre figure è rappresentata come se fosse doppia, come appunto può apparire per effetto ottico. Non bisogna confondere colla capsula lo strato periferico alquanto ispessito del corpo del parassita. Se questa capsula sia formata dal parassita, ovvero sia avventizia resta da vedere.

V. Il corpo del parassita si presenta al 7° giorno diviso in un enorme numero di sporozoiti (tav. VI, fig. 7). All'8°, 9° giorno le capsule si rompono (tav. VI, fig. 8) e fuoriescono gli sporozoiti. Restano le capsule flaccide e raggrinzate (tav. VI, fig. 12) che dopo qualche giorno vengono riassorbite.

VI. Si danno numerosissime varietà come in altre specie di sporozoi. Il parassita può raggiungere differenti dimensioni (nelle nostre figure non sono rappresentate quelle massime). Spesse volte il parassita raggiunge il diametro di circa 70 μ. Complicatissima è la disposizione degli sporozoiti, per quanto difficile a precisarsi.

VII. La posizione del parassita nel corpo dell' Anofele è indicata dalla tav. VI, fig. 8, la quale rappresenta due sezioni del corpo dell' animale comprendenti la parete intestinale e il corpo adiposo.

Nella tav. VII (tutte le figure, eccetto le fig. 7-8) sono rappresentati i vari stadi di sviluppo, di cui si è precedentemente parlato, artificialmente coloriti.

Riserbando ad altro lavoro lo studio della fina struttura del parassita, possiamo fin d' ora notare il punto più importante. Si notano, cioè, delle masse di cromatina. Queste masse si dividono moltissime volte. Dopo un certo numero di suddivisioni appaiono relativamente piccole (fig. 5 e fig. 10) e vanno ancora più impiccolendosi colle divisioni succes-

sive.[1] Nella fig. 13 si distingue una porzione di protoplasma, individualizzata per ciascuna massa di cromatina, e nettamente fusiforme. Successivamente il fuso s'allunga (fig. 11) fino a raggiungere la lunghezza di 14 μ: allora il fuso, *sporozoito* dei zoologi, è maturo. In esso però la massa di cromatina in generale non è più unica (fig. 15); precisando, in ogni sporozoito maturo, invece d'una semplice massa di cromatina si distingue con facilità un nucleo con parecchi corpuscoli di cromatina. Non tutto il corpo del parassita si è trasformato in sporozoiti, restando in questo, come in molti altri sporozoi, delle masse non segmentate (reliquati, detti anche nuclei o masse residuali).

Il processo di riproduzione qui descritto trova riscontro in altri sporozoi recentemente studiati, più particolarmente poi nei parassiti malarici della terzana (tav. VI, fig. 20 e tav. VII, fig. 8) e nel Proteosoma (tav. VI, fig. 21) recentemente ristudiato dal Grassi.

***

Abbiamo detto di sopra che le capsule contenenti gli sporozoiti a un certo punto si rompono. Gli sporozoiti divenuti liberi si raccolgono nei tubuli componenti le ghiandole salivari, invadono le cellule di queste ghiandole (tav. VI, fig. 10; tav. VII, fig. 7), possono riempirle, occupano anche il lume dei tubuli (tav. VI, fig. 11 a).

Gli sporozoiti nelle ghiandole salivari sono identici a quelli che erano fuorusciti dalle capsule e che noi avevamo giudicati maturi (tav. VI, fig. 9; tav. VII, fig. 15).

Premendo opportunamente la testa dell'Anofele si può provocare la fuoruscita degli sporozoiti come deve avvenire in natura quando l'Anofele punge.

***

In rarissimi Anofeli vissuti 10 e più giorni dopo che si sono infettati di semilune, si trovano delle capsule contenenti dei corpi speciali giallo-bruni (tav. VI, fig. 14), invece dei soliti sporozoiti. Corpi simili si trovarono anche in Anofeli infetti da parassiti malarici, probabilmente terzanari, presi in camere di individui malarici (tav. VI, fig. 15-16-17). Essi trovano evidente riscontro nelle spore nere descritte da Ross nei *mosquitos* grigi infettati di Proteosoma. La forma loro è molto variabile, come dimostrano le figure, la loro parte centrale è chiara (tav. VI,

---

[1] Anche in stadi giovani possono vedersi masse di cromatina piccole, accanto però a masse grosse (tav. VI, fig. 20 A).

fig. 17 a). La capsula che li contiene può presentarsi raggrinzata (tav. VI, fig. 14). L'opinione primitiva di Ross, divisa anche, a quanto sembra, da Laveran e da Manson, era che questi corpi fossero forme resistenti, cioè spore in senso proprio, indicanti perciò un ciclo ignoto di sviluppo del parassita malarico.

In una delle nostre Note ci siamo anche noi accostati a questa ipotesi, quantunque avessimo già notato che eravamo colpiti dalla irregolarità della forma di questi corpi, la quale poteva far pensare a processi degenerativi. Nella Nota pubblicata il 7 maggio noi invece li abbiamo giudicati alterazioni regressive dello sporozoo.

Vogliamo ora meglio chiarire le ragioni che ci hanno condotti a questa conclusione.

Se questi corpi fossero stati realmente spore, avrebbero dovuto subire uno dei seguenti due destini: passare nell'ambiente esterno e quindi infettar l'uomo introducendosi nel tubo intestinale,[1] per mezzo dell'acqua potabile o per mezzo dell'aria; ovvero passare nell'acqua e infettare le larve degli Anofeli. La prima via, già *a priori* del tutto improbabile, venne esclusa anche per via sperimentale, avendo uno di noi ingoiate impunemente (Grassi), e fatte ingoiare da altri, moltissime di queste supposte spore in differenti epoche. La seconda via venne pure esclusa dalla circostanza che noi non verificammo lo sviluppo ulteriore di esse entro il corpo delle larve degli Anofeli.

Parla inoltre in favore della nostra conclusione la suddetta irregolarità di forma dei corpi in discorso, la loro rarità e la circostanza che processi degenerativi simili si verificano in altri parassiti dei Culicidi.

Per un certo tempo noi supponevamo che si potessero riferire ai parassiti malarici anche altri sporozoi che si riscontrano in molte parti del corpo (fuori della parete intestinale, lungo il vaso dorsale, in svariate parti della testa e del torace) degli Anofeli.

Essi hanno la figura alle volte di tubuli, alle volte di globi irregolari, alle volte di ampolle (tav. VI, fig. 18, 18 c). Questi sporozoi formano delle spore ovolari che possono diventare giallo-brune (tav. VI, fig. 18 a-b-c) e in questo caso rassomigliano alle supposte spore brune dei parassiti malarici.

Ulteriori ricerche, sopratutto la mancanza di qualunque stadio di passaggio tra i parassiti malarici e gli sporozoi in discorso, ci hanno persuaso trattarsi di un parassita a sè, che non ha nulla a che fare coi parassiti malarici.

---

[1] Le vie aeree sono escluse *a priori*, come dimostra la struttura delle supposte spore.

Le uova degli Anofeli si trovano non di rado infette di un altro sporozoo formante spore con otto sporozoiti (tav. VI, fig. 19). Per un momento abbiamo supposto che anche questi sporozoi avessero rapporto coi parassiti della malaria, ma poi ci siamo convinti che si tratta di un parassita a sè.

***

Passiamo alle condizioni per lo sviluppo dei parassiti malarici nell' Anofele.

La prima condizione necessaria è naturalmente la presenza nel sangue dei gameti dei due sessi, *maturi* e *vitali*.

L' altra condizione di grande importanza, sulla quale abbiamo richiamato l' attenzione già nella nostra seconda Nota, è la *temperatura adatta*. In seguito anche Ross è arrivato alle stesse conclusioni per il Proteosoma.

Alla temperatura di 14°-15° C, lo sporozoo delle febbri estivo-autunnali non si sviluppa nel corpo dell'Anofele; a 20°-22° C circa subisce uno sviluppo costante ma lento; alla temperatura costante di 30° C in circa sette giorni compie lo sviluppo completo fino alla formazione degli sporozoiti.

La necessità di una temperatura adatta è sopratutto evidente per le prime modificazioni che subisce la semiluna nel lume dell' intestino dell' *Anopheles*. Infatti è noto da molto tempo che in inverno si vede di rado la formazione dei corpi flagellati dalle semilune, ma se appena fatto, il preparato si pone in un termostato, allora si può osservare la formazione dei flagelli in qualunque stagione.

È quindi necessario, quando si vogliono infettare artificialmente gli Anofeli in inverno, o di lavorare in un ambiente ben caldo, o di porli in termostato subito dopo la puntura. Così a noi accadeva di riscontrare costantemente lo sviluppo dello sporozoo malarico negli Anofeli tenuti in stufa, mentre tale sviluppo non avveniva in quelli tenuti nell' ambiente del laboratorio, che raggiungeva di rado e solo per alcune ore i 14°-16° C.

Ognuno vede l' importanza epidemiologica delle suddette condizioni.

***

Per completare il ciclo di sviluppo dei parassiti producenti le febbri estivo-autunnali, restava da dimostrare che queste febbri sono prodotte dagli sporozoiti derivati dalle semilune.

Questa dimostrazione venne data dal seguente esperimento compiuto all' ospedale di S. Spirito.

Nel dicembre 1898 si nutrirono molti Anofeli col sangue, assai ricco di semilune, di un malato recidivo di febbri estivo-autunnali. Questi Anofeli, che così s' infettarono di semilune, furono tenuti per vari giorni ad una temperatura di 18°-22° C, e poi si portarono nella stufa alla temperatura di 30° C, per accelerare lo sviluppo dei parassiti. L' esame metodico di alcuni di questi Anofeli sezionati di giorno in giorno dimostrò che tutti contenevano sporozoi semilunari in via di regolare sviluppo, finchè osservammo la comparsa di sporozoi maturi e anche di sporozoiti nelle ghiandole salivali. Essendo allora logico ritenere che, secondo ogni probabilità, anche gli Anofeli non esaminati presentassero un identico reperto, ne furono presi tre, e con questi il 2 gennaio si fece pungere un soggetto che non aveva mai avuto febbre; poi il 5 gennaio si fece punger di nuovo lo stesso individuo da due dei tre Anofeli suddetti.

In tutto dunque, questo individuo ebbe cinque punture da tre Anofeli.

Dopo le punture i tre Anofeli vennero esaminati; si trovò che tutti e tre avevano sporozoi maturi nell' intestino e capsule rotte; due soltanto avevano anche sporozoiti nelle ghiandole salivali.

L' individuo punto dagli Anofeli, dopo aver avuto leggeri sintomi prodromici, il 14 gennaio fu preso da febbre alta, la quale si svolse col decorso tipico di una febbre estivo-autunnale di prima invasione: nel sangue si trovarono i parassiti corrispondenti.

L' infezione fu subito curata e vinta con iniezioni di chinino.

***

Stabilito in questo modo che la malaria si trasmette da uomo a uomo per mezzo degli Anofeli, diventa assai importante lo studio di questi insetti nelle varie epoche dell' anno.

Nella Campagna Romana, durante l' inverno, in generale gli Anofeli restarono stazionari nelle stalle, nei pollai, nelle case, qualcuno anche nelle grotte. Di tanto in tanto si nutrivano, di solito senza che gli ovari andassero oltre nello sviluppo (ciò abbiamo verificato in occasione degli allevamenti artificiali dei parassiti malarici).

Mentre gli Anofeli presi nelle stalle e nei pollai, dove si nutrivano per lo più di sangue di animali domestici, non si presentavano quasi mai infetti, quelli presi nelle case dove degevano malati, nei mesi di novembre e dicembre, frequentemente contenevano i parassiti malarici nei vari stadi di sviluppo. La massima percentuale è stata osservata agli ultimi di novembre, fino a trovarne il 75 $^0/_0$ in alcune camere dove tutti quelli che vi dormivano erano malarici.

Nel mese di gennaio si trovarono rarissimi Anofeli infetti, nessuno coi parassiti maturi nelle pareti intestinali, pochissimi cogli sporozoiti nelle glandole salivari.

In modo corrispondente i casi di nuove infezioni malariche furono molto numerosi in novembre e diventarono meno frequenti in dicembre.

Del resto è noto da molti anni che nella sala incisoria dell'ospedale di Santo Spirito accade di sezionare individui morti di perniciosa (infezione primitiva) anche nel mese di dicembre. Quest'anno l'ultimo caso di perniciosa sezionato dal prof. Marchiafava fu ai primi di gennaio.

Il fatto che dopo non si ebbero più infezioni primitive dipende da due ragioni. Anche gli Anofeli che pungevano i malarici più non si infettavano ad inverno inoltrato, perchè le condizioni della temperatura più non permettevano lo sviluppo dei parassiti. D'altra parte gli Anofeli colle ripetute punture si erano liberati dagli sporozoiti onde erano infetti. Un tempo sospettammo che gli sporozoiti non fuoriusciti colle punture andassero incontro ad un processo di distruzione: non abbiamo però potuto trovare fatti sufficienti per appoggiare il nostro sospetto.

In corrispondenza colla mancanza di casi primitivi di malaria in inverno inoltrato, noi verificavamo che gli Anofeli raccolti anche nelle case di individui malarici non erano più capaci di propagare la malaria ad uomini sani.

***

Raccogliamo qui in breve le ricerche da noi fatte sugli altri Anofeli.

Le osservazioni comparative fatte dal Grassi in Calabria lo avevano condotto a sospettare come agenti propagatori della malaria anche le altre specie di Anofeli che trovansi in Italia.

Queste specie, secondo le ricerche del Ficalbi, completate dal Grassi, sono le seguenti;

1. *Anopheles bifurcatus* (ne esiste una varietà che denominasi *Anopheles bifurcatus* var. *nigripes*);
2. *Anopheles pseudopictus* (Grassi);
3. *Anopheles superpictus* (Grassi).

Abbiamo sperimentato insieme l'*Anopheles bifurcatus* var. *nigripes*, sia con sangue contenente gameti terzanari, sia con sangue contenente forme semilunari: i risultati furono indubbiamente positivi.

Abbiamo del pari sperimentato insieme con risultato positivo l'*Anopheles superpictus* con sangue semilunare.

Non occorre dire che gli sperimenti furono condotti rigorosamente, coi debiti controlli, ecc.

***

Coi *Culex* abbiamo potuto sperimentare pochissimo, sempre però con risultato negativo.

***

Come è noto, da parecchi si è pensato che l'infezione malarica delle zanzare si trasmettesse dalla madre alla prole. Se non erriamo, il primo ad emettere tale ipotesi è stato Koch: l'ipotesi ha acquistato credito dalla scoperta dei corpi bruni di Ross, che questo scrittore, e, a quanto sembra, anche Laveran e Manson, hanno ritenuto destinati ad infettare le larve. Anche alcuni fatti epidemiologici sembravano appoggiare l'ipotesi dell'infezione ereditaria delle zanzare, alla quale anche noi ci siamo accostati nella nostra seconda nota.

Particolarmente a due di noi (Bignami e Bastianelli) l'ipotesi appariva più degna di considerazione. Sembrava infatti difficile spiegare l'insorgere quasi ad un tratto delle febbri estivo-autunnali soltanto con la dottrina della trasmissione indiretta da uomo a uomo per mezzo della zanzara. È noto che al principio dell'estate aumenta considerevolmente e quasi ad un tratto il numero dei malati di malaria negli ospedali di Roma, e i colpiti sono quasi tutti affetti di febbri estivo-autunnali. Come mai in così breve tempo si hanno tanti colpiti di febbri estivo-autunnali, mentre il numero dei malati con semilune nel sangue dall'inverno alla primavera va sempre diminuendo? Si sapeva infatti che alla fine della primavera è un'eccezione vedere all'ospedale un sangue con semilune. Abbondano invece in quel tempo le terzane comuni e le quartane recidive. « Tutto ciò », dicevamo, « porterebbe di necessità ad ammettere la « infezione ereditaria delle zanzare, se la difficoltà di spiegare un fatto « potesse valere come argomento sufficiente ad ammetterne un altro ». Naturalmente la non conoscenza del significato delle *spore brune* ci confortava in questa ipotesi.

Era necessario quindi verificare se dovesse essere ammessa o rifiutata.

Stabilimmo quindi di studiare le larve di *Anopheles* e i giovani alati e dippiù di tentare di risolvere con l'esperimento il problema, facendo pungere soggetti sani da giovani alati che con certezza non avessero mai punto l'uomo.

Nelle larve non abbiamo trovato nulla che potesse mettersi in rapporto col ciclo a noi noto dei parassiti malarici: negli alati l'attenzione nostra fu rivolta tanto a zanzare nate dalle larve, le quali non avevano mai punto l'uomo, come a quelle le quali avevano punto soggetti sicuramente sani, ed abbiamo studiato in modo speciale le glandole salivali.

Diciamo subito che non vi abbiamo trovato nulla che potesse riferirsi ai parassiti malarici. Nelle glandole salivali accade di riscontrare delle forme che a tutta prima si potrebbero supporre sporozoiti trasformati, o degenerati; basta però tener sott'occhio dei preparati di ghiandole salivali contenenti veri sporozoiti per eliminare qualunque dubbio.

Fino ad ora, adunque, i risultati dell' osservazione sono stati negativi.

Gli esperimenti sono stati eseguiti tanto per mezzo di anofeli allevati da uova, come per mezzo di anofeli sviluppati da larve raccolte in vari punti della campagna di Roma (Maccarese, Ostia, Porto, Fiumicino, Palidoro, Tortreponti, ecc.). Gli anofeli, le cui uova si allevarono in laboratorio, provenivano da abitazioni di malarici; quindi una parte almeno di esse doveva essere stata, a suo tempo, infetta.

Gli esperimenti sono cominciati nell'Ospedale alla fine di marzo, e nel Laboratorio di anatomia comparata ai 10 di aprile. All'Ospedale fu punto dal 30 marzo al 29 aprile un individuo che mai aveva avuto febbri malariche; nel Laboratorio di anatomia comparata cinque persone, tra cui il Grassi stesso, per parecchi mesi.

Nessuno è stato colpito da febbri malariche.

Riteniamo perciò, *fino ad ora,* che gli Anofeli nascano non infetti e perciò incapaci di trasmettere le febbri malariche.

***

Aggiungeremo qualche cenno sulle nostre ricerche riguardanti la terzana comune e la quartana.

Intorno alla prima riferiscono in esteso due di noi nella Nota che segue. Lavorando insieme abbiamo veduto, come sopra accennammo, che gli *Anopheles claviger* trasmettono la terzana comune. Siamo infatti riusciti ad ottenere la terzana in due soggetti, mai antecedentemente affetti da malaria, sottoponendoli alle punture di *Anopheles claviger* raccolti in novembre e in dicembre nelle abitazioni dei malarici.

I parassiti della terzana comune che si sviluppano nell'intestino medio delle varie specie di *Anopheles* si distinguono facilmente nei primi stadi da quelli delle febbri estivo-autunnali per il pigmento.

Per la quartana abbiamo risultati molto più scarsi, in rapporto colla ben nota scarsità dei gameti nei quartanari. Abbiamo potuto seguire soltanto le prime fasi di sviluppo del parassita (2° e 3° giorno). Anche in esso il pigmento è caratteristico.

***

Riassumiamo in poche parole i risultati delle nostre ricerche:

1° I parassiti delle febbri malariche dell'uomo compiono nelle pa-

reti dell'intestino medio degli Anofeli un ciclo di vita, durante il quale danno luogo alla formazione di sporozoiti che passano nelle glandole salivari; da queste possono arrivare all'uomo con la puntura.

2° È dimostrato che l'infezione malarica si trasmette da uomo ad uomo mediante gli Anofeli.

3° Le così dette *spore brune* di Ross sono alterazioni regressive dello sporozoo.

4° Tutte le specie del genere *Anopheles* da noi sperimentate trasmettono la malaria.

5° Fino ad ora non si è constatato che i *Culex* siano capaci di trasmettere la malaria.

6° La condizione principale per lo sviluppo dei parassiti negli *Anopheles* sta nella temperatura adatta. Al disotto di una certa temperatura non si ha sviluppo.

7° Fino ad ora i dati sperimentali non permettono di accettare la ipotesi dell'infezione ereditaria negli Anofeli.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

Le fig. 16-21 della tav. VI e 8-14 della tav. VII furono eseguite su preparati di Grassi (Oc. comp. 8. Ob. 2 Ap. 1. 30 Kor. tubo accorciato), colla di lui guida: le altre su preparati di Bignami e Bastianelli colla loro guida (Leitz Oc. 3. Ob. $^1/_{12}$ I.).

Tutte le figure si riferiscono ai parassiti delle febbri estivo-autunnali, eccetto quelle indicate in modo speciale nella spiegazione delle figure stesse.

Tavola VI.

Fig. 1-8. Sviluppo delle semilune nelle pareti intestinali dell'Anofele (Formalina).

Fig. 9. Sporozoiti isolati (Formalina).

Fig. 10-11. Sporozoiti nelle glandole salivari (nel lume dei tuboli: fig. 11-A) (Formalina).

Fig. 12. Capsule vuote aderenti alle pareti dell'intestino (Formalina).

Fig. 13. Capsula che contiene residui di segmentazione (Formalina).

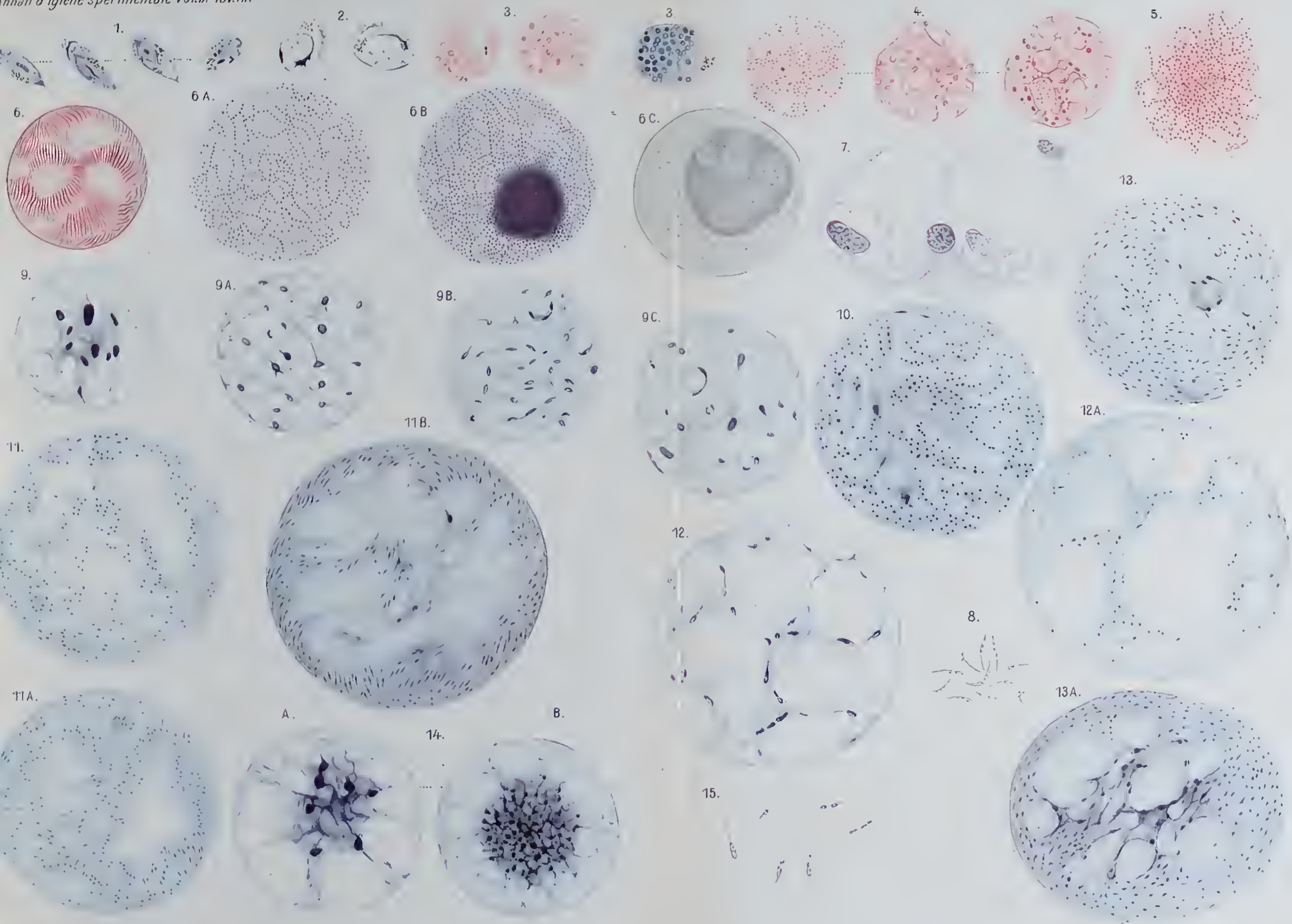
Fig. 14. Capsula coi corpi giallo-bruni (Formalina).

Fig. 15. Idem (da un Anofele raccolto nell'abitazione di individui malarici) (Formalina).

Fig. 16-17. Capsule coi corpi giallo-bruni (da Anofeli raccolti nell'abitazione di individui malarici). (Formalina, Emat. Ferrica).

Fig. 17-A. Rappresenta alcuni corpi giallo-bruni della fig. 17, più ingranditi (Ematossilina ferrica).

Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig.



Institut F. A. Brockhaus Leipzig.

Fig. 18. Sporozoo non pertinente alla malaria. Vedi il testo a pag. 264.
Fig. 18-A, B. (Formalina).
Fig. 18-C. (Emallume).
Fig. 19 (in basso). Altro Sporozoo non pertinente alla malaria. Vedi il testo a pag. 265 (Fucsina).
Fig. 19-A, B. Sezione di Anofele. Vedesi l' epitelio intestinale e il corpo adiposo, *par* = parassita (Emallume).
Fig. 20. Primi stadi di sviluppo del parassita (Terzana). (Formalina. Ematoss. ferrica).
Fig. 21. Stadi di sviluppo del proteosoma. (B. Sezione ottica in cui non si vede il pigmento). (Idem).

Tavola VII.

Fig. 1. 40-48 ore dopo la puntura (s' intende sempre a 30° C.). (Formalina. Ematoss. Böhmer).
Fig. 2. Dopo circa 50 ore. Idem.
Fig. 3. Dopo circa tre giorni. Idem. (due parassiti però coloriti col carminio boracico).
Fig. 4-5. Dopo circa cinque giorni. Idem. (tutti però coloriti col carminio boracico).
Fig. 6. Dopo circa sette giorni (Sezione). (Saffranina).
Fig. 6-A, B, C. Dopo circa sette giorni. Sono coloriti i nuclei degli sporozoiti (il loro protoplasma è per lo più non ben visibile). (6-A, B. Ematossilina Böhmer, 6-C. Ematossilina ferrica).
Fig. 7. Sporozoiti nelle glandole salivari.
Fig. 8. Sporozoiti nelle glandole salivari. (Formalina. Glicerina.) (Secondo ogni verosimiglianza appartenenti alla terzana).
Fig. 9. 4 giorni circa dopo la puntura. (Formalina. Ematossilina ferrica.)
Fig. 10. 5 giorni circa dopo la puntura. (Idem).
Fig. 11, 11-A, 11-B. 7 giorni circa dopo la puntura. Le figure 11 e 11-A rappresentano differenti sezioni ottiche di uno stesso corpo. La figura 11-B rappresenta pure una sezione ottica dello stesso corpo, però nella parte di mezzo. (Idem).
Fig. 12, 12-A. 7 giorni circa dopo la puntura. (Idem).
Fig. 13, 13-A. 7 giorni circa dopo la puntura. (Idem).
Fig. 14. 5 giorni circa dopo la puntura. (Idem).
Fig. 15. Sporozoiti maturi fuoriusciti da capsule mature dell' intestino. Del tutto uguali sono quelli nelle glandole salivari. (Romanowski).

SULLO SVILUPPO DEI PARASSITI DELLA TERZANA

NELL' « ANOPHELES CLAVIGER »

per i Dottori G. BASTIANELLI e A. BIGNAMI

(con la Tavola VIII)

In una nota pubblicata da Grassi e da noi, in data del 22 dicembre 1898, [1] furono annunziati i primi risultati dello studio su cui qui riferiamo più in esteso. Annunziammo di aver seguìto lo sviluppo dello emosporidio della terzana soltanto fino al quinto giorno, e già furono indicate alcune particolarità del ciclo dell'emosporidio stesso nell'intestino dell'*anopheles,* particolarità per cui le forme del parassita della terzana comune sono distinguibili da quelle derivate dai corpi semilunari: « il corpo dell'emosporidio è più pallido, meno rinfrangente ed un poco più grande, ad eguale stadio di sviluppo: il pigmento è assai più scarso e più fino ». Aggiungevamo che « lo studio della terzana presenta maggiori difficoltà perchè le forme mature e non sporulanti, che sono quelle che si sviluppano nell'*anopheles,* non si trovano nel sangue in così gran numero come le forme semilunari: il reperto nel zanzarone è quindi più scarso ».

In una nota precedente [2] Grassi e noi avevamo annunciato di aver prodotto una terzana comune in un infermo, che era stato punto in novembre-dicembre da *anopheles;* in seguito potemmo ottenere una terzana con la puntura di pochi *anopheles* presi nella cantina d'una casa, dove vivevano individui malati di terzana. [3] Da queste osservazioni ed espe-

---

[1] *Ulteriori ricerche sul ciclo dei parassiti malarici umani nel corpo del zanzarone.* Rendic. dell'Accademia dei Lincei, 1898.

[2] *Coltivazione delle semilune malariche dell'uomo nell'Anopheles claviger Fabr.* Ibid., 28 novembre. Aggiunta.

[3] *Ulteriori ricerche,* ecc., v. s. Aggiunta alla nota stessa.

rienze risultava che nel nostro paese la terzana, così detta primaverile, è in istretto rapporto coll'*Anopheles claviger*, il quale deve considerarsi, fino ad ora, come l'ospite intermedio principale di questo parassita.

Gli studi sulla terzana sono stati continuati da noi e ne facciamo oggetto di una pubblicazione speciale, perchè da questi si può giungere ad una conclusione che non è senza importanza nella storia del parassita della malaria; noi riteniamo che il parassita della terzana sia distinguibile da quello delle febbri estive anche nel suo ciclo di sviluppo al di fuori dell'uomo per caratteri morfologici: dallo studio morfologico e dagli esperimenti concludiamo che la specie parassitaria si conserva nel ciclo di vita che il parassita compie nell'intestino della zanzara.

Lo sviluppo del parassita nell'intestino dell'Anopheles. — Le forme le quali si sviluppano nell'intestino dell'*anopheles* sono, come si è detto, le forme grandi mature del parassita.

Fino da molto tempo è stato riconosciuto, da Celli [1] e da Antolisei, [2] che non tutte le forme del parassita della terzana finiscono colla moltiplicazione: alcune si ingrandiscono quanto o più delle forme che si moltiplicano, e di queste alcune emettono i flagelli, di altre non si vedono che alterazioni regressive. Nel 1890 anche noi studiammo questi corpi, e, per una serie di ragioni che qui non è il caso di ripetere, fummo indotti a stabilire un'analogia tra questi e i corpi semilunari del parassita delle febbri estivo-autunnali. [3] A conclusioni simili giunse anche Dionisi. [4]

I corpi grandi non sporulanti della terzana non sono stati oggetto di studi così numerosi e di discussioni così vive come i corpi semilunari, malgrado la loro evidente analogia, la quale risultava, quando noi comunicammo i risultati delle nostre osservazioni, non solo dal fatto che i corpi della terzana dànno luogo alla formazione di flagellati, ma anche e principalmente da considerazioni cliniche: così anche poco si è studiata la loro struttura.

Soltanto Ziemann ha messo in rilievo alcune particolarità morfologiche per le quali tali forme si differenziano da quelle destinate a moltiplicarsi: la cromatina si disgrega, e diviene meno colorabile: il protoplasma è meno colorabile del pari, e poco a poco la cromatina scompare; la

---

[1] *Riforma medica,* 1889.

[2] *Riforma medica,* gennaio 1890.

[3] *Riforma medica,* giugno 1890, ottobre 1890.

[4] *Sperimentale,* anno XLV. Memorie originali, fascicolo 3°.

scomparsa della cromatina è, secondo Ziemann, la caratteristica del diventar sterili di questi corpi: « tra i parassiti capaci di svilupparsi e le forme manifestamente sterili esistono tutti i gradi intermedi ». [1]

Come accennammo in una nota preliminare, ci siamo occupati quest'anno anche dello studio di questi corpi e dei flagellati che ne derivano. [2]

Se si studia un preparato di terzana colorato col metodo di Romanowski, nove a sei ore prima dell'attacco febbrile o durante il principio di questo si vedono, oltre ai corpi in via di moltiplicazione, i quali già hanno due, quattro o sei nuclei o più, dei corpi di grandezza eguale o più voluminosi, nei quali il nucleo è unico e vescicolare. La cromatina nei nuclei in via di divisione è fatta di bastoncini ravvicinati in modo da costituire un ammasso più o meno compatto; invece la cromatina del nucleo dei grossi corpi maturi che non si moltiplicano è fatta di bastoncini o di granuli più o meno lontani l'uno dall'altro: questa disposizione della cromatina a fili, o bastoncini ben distinti, è caratteristica di questi corpi.

Ma non solo nei corpi adulti si vede tale disposizione della cromatina: si vede anche in parassiti il cui sviluppo è assai meno avanzato, cioè in corpi circa un terzo più piccoli di quelli precedentemente descritti: evidentemente i corpi più grandi derivano da questi più piccoli, ed è lecito supporre che i corpi terzanari i quali non si moltiplicano nell'organismo umano, ma che sono destinati a svilupparsi nell'intestino della zanzara, abbiano fino dai loro primi stadi una struttura caratteristica. Ma nel sangue circolante non si vedono forme giovanissime con tale struttura, invece nel sangue circolante si rinvengono quasi esclusivamente i gameti [3] maturi. Verosimilmente, anche per la terzana la formazione dei gameti ha luogo nel midollo delle ossa come per le febbri estivo-autunnali, e come nei casi ordinari di febbre estiva si vedono sempre le semilune mature nel sangue e di rado, e solo nei casi gravi, le semilune giovani (mai le semilune piccolissime), così nelle terzane si vedono nel sangue solo i gameti a sviluppo più avanzato.

Fino ad ora non abbiamo avuto l'occasione di studiare il midollo osseo d'individui morti con infezione terzanaria, in guisa che solo per

---

[1] *Ueber Malaria und andere Blutparasiten,* pag. 26. Iena, Fischer, anno 1898.

[2] *Intorno alla struttura delle forme semilunari e e dei flagellati nei parassiti malarici* (*Annali di Medicina Navale,* fasc. II, anno IV).

[3] Adottiamo anche noi per queste forme la nomenclatura zoologica introdotta pei parassiti della malaria, recentemente, da Grassi e Dionisi, *Il Ciclo evolutivo degli Emosporidi.* Rendic. dell'Accad. dei Lincei. 1898.

l' analogia con le febbri estive possiamo emettere l' ipotesi che i gameti si formino per tutte le specie parassitarie nel midollo delle ossa e che abbiano fino dai primi stadi struttura caratteristica.

Per le semilune abbiamo potuto accertare la cosa studiando il midollo delle ossa mezz' ora dopo la morte in soggetti venuti agonizzanti all' ospedale e che presentavano molte semilune giovani nel sangue circolante. Lavorando in queste condizioni si possono avere preparati ben colorati, in cui la cromatina è ben riconoscibile in tutti gli stadi della semiluna, anche nelle forme giovanissime, le quali non sono più grandi delle ordinarie piccole forme ad anello e da queste si distinguono non solo pel pigmento (di cui hanno, ad egual volume, maggiore quantità) e per la colorazione del protoplasma, ma anche per la cromatina, la quale è fatta da fini bastoncelli più o meno lontani l' uno dall' altro. Per i gameti delle febbri estive è quindi dimostrato che hanno struttura caratteristica fino dai primi stadi, e riteniamo che lo stesso debba succedere per le altre specie parassitarie.

Si si studiano i preparati rimasti per un quarto d' ora o venti minuti in camera umida, si osservano le differenze caratteristiche dei macrogameti e dei microgametociti.

Nei primi il nucleo si rigonfia alquanto, e per lo più si vede alla periferia in contatto col bordo del protoplasma; la cromatina è piuttosto scarsa e spesso i granuli, o bastoncini, sono in una fila trasversale; talora si vede qualche granulo fuoriuscito dal nucleo nel protoplasma: verosimilmente la fuoriuscita di un po' di cromatina dal nucleo è un fenomeno di riduzione. I microgametociti hanno il nucleo al centro del parassita, la cromatina è in essi molto più abbondante, circa cinque o sei volte di più che nei macrogameti. La cromatina si presenta in vario modo: in alcuni è raccolta in un ammasso unico al centro del nucleo, ammasso che si colora assai fortemente, in altri invece si presenta come un intreccio di fili più o meno grossi e tutti fortemente colorati. I fili o bastoncelli di cromatina dei microgametociti sono più o meno ravvicinati uno all' altro; in qualche individuo i cromosomi sono ben distinti ed allontanati uno dall' altro, in altri sono così vicini da formare quasi una massa unica, di guisa che si deve pensare che quando si vede la cromatina raccolta in un ammasso unico, ciò dipende perchè i filamenti, rigonfiandosi, sono venuti a mutuo contatto: infatti sappiamo che lasciando i preparati in camera umida la cromatina si rigonfia. Lo stadio ora descritto è quello che precede la formazione dei flagelli (microgameti). I quali si formano in questo modo: le masse di cromatina si portano alla periferia e da queste partono i filamenti, i quali, quando sono liberi, si vedono costituiti di un asse centrale di cromatina e di uno

strato di protoplasma. Anche i corpi che presentano la cromatina riunita in un unico ammasso dan luogo alla formazione di microgameti del tutto uguali agli altri che si vedono provenire dalle masse meglio separate di cromatina.

Le figure della prima categoria sono molto simili a quelle che si vedono per le semilune, sia che la formazione dei flagelli abbia avuto luogo, per queste, nel preparato tenuto in camera umida, sia che abbia avuto luogo nell' ambiente naturale, cioè nell' intestino dell' *Anopheles:* questo modo di formazione dei flagelli è simile a quello figurato da Sacharoff[1] per i parassiti degli uccelli, ed in modo analogo occorre la formazione dei microgameti negli sporozoi studiati da Simond,[2] da Schaudinn e da Siedlecki.[3]

Come accennammo nella nota sopracitata, i flagellati della terzana differiscono alquanto da quelli delle semilune. Per le semilune abbiamo osservato che un microgametocito dà origine quasi sempre a quattro microgameti, di rado a un numero maggiore: ciò abbiamo constatato tanto nei preparati tenuti in camera umida col metodo di Sacharoff, come nei preparati fatti col sangue contenuto nell' intestino dell' *Anopheles* dopo un' ora e mezzo circa dal succhiamento. Così nelle figure delle varie pubblicazioni di Marchiafava e Celli troviamo i flagellati delle febbri estive figurati con non più di quattro flagelli. Nei nostri preparati di terzana si vedono invece quasi sempre sei o sette flagelli, più spesso sei. Abbiamo, è vero, disegnate delle figure con due o tre microgameti soltanto, ma nel microgametocito si trova allora tanta cromatina, quanta, a un dipresso, corrisponderebbe ai filamenti mancanti.

Infatti, quando la formazione dei microgameti è completa e questi sono liberi attorno alla sfera residuale, la sfera è costituita solo di protoplasma con pigmento e (almeno per quanto abbiamo veduto finora) non contiene più cromatina.[4] Sicchè le figure da noi disegnate con soli due o tre microgameti bene sviluppati, vanno interpretate come figure di individui nei quali il disseccamento ha sorpreso la formazione dei flagelli ed ha, naturalmente, impedito che tutti arrivassero al completo sviluppo.

---

[1] *Centralblatt für Bacteriologie,* 1895.

[2] *L'évolution des Sporozoaires du genre Coccidium* (*Annales de l'Institut Pasteur,* 1897. t. XI).

[3] *Beiträge zur Kentniss der Coccidien* (*Verhandlungen der deutsch. zool. Gesellschaft,* 1897.

[4] *Annales de l'Institut Pasteur,* dicembre 1898.

La quantità dei gameti è differente nei vari casi di terzana. Quando il reperto delle forme del ciclo febbrigeno è abbondante, abbondano anche i gameti e fino dai primi attacchi febbrili; i reperti più ricchi si hanno nelle infezioni primitive e nelle prime recidive, ovvero in quelle recidive che avvengono dopo lunghi periodi di apiressia.

Nei malati in cui si sono succedute recidive senza interruzione, il reperto dei parassiti è più scarso e la quantità dei gameti più scarsa ancora, e lo stesso accade per le semilune; così avendo noi studiato lo sviluppo dei parassiti della terzana nell' *anopheles* in una stagione in cui si avevano solo infezioni recidive, abbiamo avuto in pochi casi il reperto abbondante che è più opportuno per questi studi.

È stata questa condizione che non ci ha permesso di dedicare gran parte delle nostre ricerche alla verificazione dei fenomeni sessuali del parassita della terzana. Soltanto abbiamo veduto talora accanto a flagellati con i flagelli staccati, corpi grandi (coi caratteri di quei corpi che abbiamo descritto come macrogameti), con un filamento di cromatina nel nucleo. Nel nucleo del macrogamete, oltre al filamento suddetto, si trova una piccola massa di cromatina separata dal filamento e nel protoplasma dei granuli finissimi di cromatina: è probabile che il filamento rappresenti la cromatina di un microgamete. Per ora solo a questo si limitano le nostre constatazioni di fenomeni sessuali nel parassita della terzana, cioè alla determinazione dei caratteri degli individui sessuali.

Per il parassita della terzana fino ad ora nessuno ha avuto occasione di constatare *de visu* l'ingresso di un flagello in un macrogamete, nè di seguire le prime modificazioni nucleari consecutive: in guisa che la nostra opinione, che lo sporozoo che si sviluppa nell' *anopheles* sia il macrogamete fecondato, non risulta dalla osservazione diretta che in parte, ma è resa necessaria dalle conoscenze ormai acquisite su questo argomento. [1]

---

[1] Riportiamo in breve le opinioni ed i fatti fino ad ora pubblicati intorno ai fenomeni sessuali di questi esseri. Il primo che abbia parlato di fenomeni sessuali nei parassiti della malaria è stato Simond. Egli dopo aver ben descritto e ben interpretato la formazione dei microgameti (stadio a cromatozoiti) nel *Coccidium proprium* e nel *Coccidium Salamandrae,* mise in evidenza la grande analogia tra i corpi a cromatozoiti e i flagellati della malaria, dimostrando che tale analogia risulta dalle caratteristiche di mobilità e di struttura comuni ai suoi cromazoiti ed ai cosidetti flagelli della malaria: « secondo ogni probabilità sono gli stessi stadi negli Ematozoari e dobbiamo qui, come nei coccidi, ammettere la possibilità di una coniugazione necessaria per la produzione di una forma resistente ». Mac Callum (*Journal of experimental Medicin,* Januar, 1898) ha dimostrato la fecondazione nell' *Halteri-*

Come abbiamo accennato, le nostre osservazioni su ciò che accade dei parassiti terzanari nelle prime 24 ore dopo che sono stati succhiati dall' *anopheles* sono molto scarse finora. Riportiamo alcuni fatti che possono avere qualche interesse.

Nel sangue contenuto nello stomaco dell' *anopheles claviger* si trovano, dopo 24 ore, ancora dei parassiti ben conservati, e nelle pareti intestinali è raro vedere corpi in via di sviluppo in questo tempo, anche quando la preparazione è ben riuscita. Così spesso ci è accaduto di osservare che, esaminando in giorni successivi zanzare che aveano punto lo stesso infermo alla stessa ora e giorno, dopo due, tre, quattro giorni, il numero degli sporozoi in via di sviluppo andava aumentando. Questa osservazione abbiamo potuto fare con Grassi anche per le semilune, ma per la terzana il fenomeno si osserva con una certa costanza e con maggior frequenza: il che, mentre da un lato esclude l'ipotesi che si tratti di un fatto accidentale dipendente dalla maggiore o minore quantità di sangue succhiato, fa pensare che la fecondazione non abbia luogo per tutti i gameti ad un tempo: e non è inverosimile pensare che alcuni gameti introdotti non ancora maturi arrivino a maturazione nell' intestino del zanzarone. Chiunque si occuperà di queste ricerche vedrà che la constatazione della fecondazione sarà facile solo avendo a disposizione un sangue con reperto eccezionalmente abbondante.

Per studiare lo sviluppo del parassita nell' *anopheles claviger,* ci siamo serviti quasi esclusivamente di *anopheles* ibernanti nelle stalle; in questi *anopheles l' intestino si trova costantemente privo di sporozoi;* così nei zanzaroni ibernanti nelle stalle non si trovarono le così dette spore brune. Quando ricevevamo le zanzare raccolte in una stalla, una parte di queste

---

dium: ha distinto gli elementi maschili dai femminili ed ha descritto la forma fecondata. Due volte ha veduto la penetrazione dei flagelli della semiluna in un corpo rotondo. Ross e Mauson hanno ammesso che l' atto sessuale si compia nell' intestino delle zanzare. Per i coccidi Schaudinn e Siedlecki nel 1897 hanno descritto i cicli evolutivi della Eimeria e dell' Adelea ovata, seguendo in modo completo la formazione dei macro e dei microgameti, la fecondazione e descrivendo le modificazioni nucleari che seguono a queste. Siedlecki (1898) ha studiato gli stessi fatti nella Klossia. Come si vede, si tratta di un fenomeno che si compie costantemente in tutti quelli tra questi esseri che sono stati studiati finora. Grassi e Dionisi, fondandosi sulle conoscenze suesposte, ritengono come noi che lo stesso debba accadere per quelli tra i parassiti della malaria umana in cui il fenomeno non fu constatato finora (terzana e quartana). Al nome di « forme microgametogene, proposto da loro pei flagellati, preferiamo, per comodità, quello di microgametociti ». (Siedlecki, *Étude cytologique et cicle évolutif de Adelea ovata Schneider. Annales de l' Institut Pasteur,* n. 2, février 1899).

era utilizzata per l'esperimento, le altre rimanevano come controllo, in guisa che possiamo senza altro affermare che le forme da noi vedute non potevano essere che quelle provenienti dal sangue succhiato in nostra presenza. Quand' anche queste cautele non si fossero avute, il seguire giornalmente l'evoluzione progressiva degli sporozoi sarebbe stata una prova convincente di quanto affermiamo.

Gli *anopheles* infettati erano tenuti a 30 gradi centigradi.

La nostra descrizione comincia con quello che si vede dopo 42 ore.

Dopo 40-42 ore dalla puntura si trova un numero maggiore o minore di sporozoi nelle pareti dell'intestino medio: sono prevalentemente nella porzione caudale dello stesso e non si vedono che con gli ingrandimenti forti: sono così trasparenti che è necessario adoperare la lente ad immersione perchè non ne sfugga qualcuno, o per vederne, se il reperto è scarso.

A fresco: Sono corpi grandi una volta e mezzo o due un globulo rosso, con parete poco netta i più piccoli, con contorno nettissimo quelli più grandi. Il contenuto o è jalino ed uniforme oppure ha aspetto vacuolizzato, o è diviso in massoline jaline pallidissime. La forma di questi corpi è rotonda, raramente un poco ovale: il pigmento è ad aghi fini che hanno l'aspetto del pigmento terzanario e sono disseminati; nei corpi divisi in massoline o che hanno l'apparenza vacuolizzata, si trovano tra i vacuoli e negli spazi chiari tra le massoline suddette. Nei preparati fatti in formolo il pigmento è sempre immobile, in un preparato fatto in soluzione fisiologica di cloruro sodico abbiamo visto una volta il pigmento mobile come nei grossi corpi terzanari.

Preparati colorati (fissazione in formolo, colorazione con carminio boracico, o ematossilina Böhmer o Ehrlich, o ferrica sec. Heidenhain). — I corpi hanno parete netta, il protoplasma è piuttosto raddensato alla parete e da questa partono dei filamenti di egual colorito i quali circoscrivono degli spazi irregolari scolorati o appena e debolissimamente colorati: il pigmento si trova spesso risiedere nei filamenti, ma anche si vede negli spazi chiari. La cromatina nucleare è o un unico ammasso d'apparenza omogenea fortemente colorato, oppure in mezzo agli spazi chiari sopra descritti si vedono delle masse più piccole, rotonde od ovali, più debolmente colorate. Talora la cromatina nucleare si vede in via di dividersi e le masse già allontanate sono riunite da un tratto di sostanza meno colorata. In questo primo stadio le masse prodotte dalla divisione sono di volume spesso disuguale: mentre negli stadi successivi sono di volume sempre più uguale.

Il macrogamete terzanario fecondato subisce dunque un aumento della cromatina del nucleo, il quale presto si divide per scissione diretta; il

protoplasma cresce anch' esso di volume e prende un aspetto reticolare che dà ai corpi a fresco l'apparenza vacuolizzata. Come nei corpi terzanari endoglobulari il protoplasma si colora intensamente coll' ematossilina, così accade degli sporozoi in via di svilippo nell'intestino dell'*anopheles*. In qualche esemplare la cromatina nucleare è meno omogenea e sembra ci si distingua una parte più colorata fatta di filamenti assai ravvicinati ed una parte di colorito meno intenso.

Corpi terzanari di tre giorni. — A fresco: Volume maggiore di $^1/_4$ o $^1/_3$ dei precedenti, parete sempre più netta, più rari i corpi d'aspetto vacuolizzati, più numerosi quelli in cui il contenuto si vede a fresco diviso in masse abbastanza regolari ed uniformi e jaline, tra le quali o al disopra delle quali sta il pigmento. Sono ancora molto trasparenti, ed esaminando cogli obbiettivi a secco (Leitz) se ne perde qualcuno: stanno a preferenza nella parte caudale dell' intestino medio. Preparati colorati: La parete è netta; in complesso l'aumento di volume del corpo è dovuto all'aumento del numero dei nuclei; si trovano in media da 8 a 15 nuclei fortemente colorati omogenei di forma rotonda o leggermente ovale: i nuclei sono più voluminosi nei corpi che ne contengono un minor numero, più piccoli in quelli ove sono più numerosi. I filamenti protoplasmatici sono meno cresciuti. Il pigmento sta o attorno alla parete, o a striscie, oppure è disseminato.

Corpi di 4 giorni. — A fresco: La parete cistica nettissima: i corpi ben visibili a piccolo ingrandimento: sono grandi $^1/_4$ circa più dei precedenti. L'aspetto vacuolizzato è eccezionale, quasi tutti si vedono o jalini, ovvero, ciò che è più frequente, divisi in masse jaline abbastanza eguali. Il pigmento è disseminato tra le massoline suddette. Sempre questi corpi sono abbastanza trasparenti e il pigmento conserva i caratteri del pigmento terzanario. — Preparati colorati: L'aspetto è come nello stadio precedente: i nuclei assai più numerosi, da 20 a 30 in un corpo, il volume dei nuclei poco minore che nello stadio precedente: non tutti sono egualmente colorati, taluno è rispetto agli altri assai pallido: sempre evidente il reticolo dei filamenti del protoplasma: i nuclei si trovano o in mezzo agli spazi delimitati da questi, oppure nei punti ove i filamenti si incrociano.

Corpi di 5 giorni. — Più grandi di $^1/_4$ dei precedenti, il contenuto in alcuni è jalino con qualche gocciolina d'aspetto adiposo, in altri si vede ancora un po' l'aspetto vacuolizzato; in taluno si vedono delle piccole massoline, ma in genere sono meno distinte che nello stadio precedente: il pigmento è in strie, o in cerchietti, ed è sempre delicato e conserva l'aspetto del pigmento terzanario. I corpi, in questo stadio, sporgono alquanto nella cavità del celoma.

Al *sesto giorno* il volume di questi corpi è uguale o poco maggiore, o assai più grande di quello dello stadio antecedente. A fresco, il contenuto è granuloso con molti e grossi granuli d'aspetto adiposo in alcuni, ed in mezzo alle masse d'aspetto adiposo si hanno pochi sporozoiti ben distinti, abbastanza lontani gli uni dagli altri e messi l'uno accanto all'altro a palizzata: in molte capsule rimane una notevole parte di contenuto non diviso. Gli sporozoiti sembrano alquanto più brillanti e più tozzi di quelli d'origine semilunare e, come si è detto, meno fitti, allineati, o disposti attorno a molti centri in mezzo a nuclei residuali. In certe capsule si vede una parte centrale con cinque o sei gruppi di sporozoiti a raggi, mentre la parte periferica è jalina: in qualche *Anopheles* abbiamo veduto pure dopo lo stesso tempo (poco più di sei giorni dalla puntura) capsule piene di sporozoiti stipati non differenziabili da quelli delle febbri estive. È difficile in questo stadio vedere il pigmento.

Nei corpi di cinque o sei giorni si possono seguire dopo la colorazione gli stadi della moltiplicazione che conducono alla formazione degli sporozoiti, come si vedono nei corpi maturi. Abbiamo veduto nello stadio antecedente che in taluni corpi cistici i nuclei si trovano in corrispondenza dei punti di intreccio dei filamenti protoplasmatici: nei corpi di cinque giorni questa disposizione è ancora più evidente, al punto che sembra che i filamenti suddetti partano dalle masse di cromatina. I nuclei hanno forma quasi triangolare, sono disposti molto regolarmente, in guisa che insieme coi filamenti circoscrivono degli spazi di protoplasma debolmente colorati, i quali sono abbastanza uguali l'uno all'altro. Accanto a questi corpi se ne vedono nello stesso preparato altri più o meno grandi, nei quali i nuclei sono più numerosi e più piccoli dei precedenti, e tutti disposti regolarmente attorno a sfere di protoplasma: con la divisione ulteriore i nuclei divengono più numerosi e più piccoli. Così si ha una serie di figure nelle quali si segue successivamente la divisione dei nuclei fino a che questi hanno il volume o la forma dei nuclei degli sporozoiti. È a questo punto che dalle sfere di protoplasma si differenzia il protoplasma degli sporozoiti nella forma caratteristica. Se si considera una delle sfere di protoplasma con gli sporozoiti allineati all'intorno, la figura ricorda notevolmente i ben noti bariletti degli sporozoi.

Nei preparati di cinque giorni accanto ai corpi ora descritti, di cui abbiamo osservato tutti gli stadi fino ai corpi maturi, si vedono dei corpi pure rotondi contenenti moltissimi nuclei ammassati, più piccoli di quelli dei corpi di quattro giorni, più eguali e lievemente ovalari: non tutti i nuclei si colorano egualmente bene: non abbiamo veduto gli stadi intermedi tra questi e i corpi maturi contenenti sporozoiti: anche qui per una

successiva divisione dei nuclei e differenziazione del protoplasma si deve arrivare alla formazione degli sporozoiti. Infatti nell'intestino di *anopheles* che hanno punto da sei giorni si trovano dei grossi corpi maturi in cui gli sporozoiti sono disposti meno regolarmente che nelle figure or ora descritte, e corrispondentemente è meno regolare la disposizione delle sfere residuali.

Accanto ai corpi maturi grandi si possono trovare corpi più piccoli, della grandezza a un dipresso dei corpi di quattro giorni, pieni di sporozoiti bene sviluppati e per nulla differenti da quelli che si trovano nelle capsule grandi: dunque lo sporozoo può arrivare allo sviluppo completo senza un accrescimento notevole di volume: abbiamo riscontrato questo fatto in un solo *anopheles* infettato di terzana. Più spesso abbiamo invece veduto, in zanzare che avevano punto una volta sola, dopo sei giorni, *sporozoi in vario stadio di sviluppo e di volume differente;* ciò accade più spesso quando il reperto degli sporozoi è piuttosto abbondante.

Fino ad ora non abbiamo avuto occasione di vedere i corpi bruni di Ross nelle zanzare infettate di terzana in laboratorio; negli *anopheles* da noi esaminati, tutti gli sporozoi erano nei vari stadi della moltiplicazione che conducono alla formazione degli sporozoiti, meno in un caso. In un *anopheles* infettato da sei giorni trovammo una grossa capsula (che abbiamo disegnato) contenente pigmento del tipico aspetto del pigmento terzanario, la quale conteneva 37 nuclei rotondi, abbastanza lontani l'uno dall'altro, di varia grandezza, alcuni grandi come i nuclei dei corpi di cinque giorni, altri grandi il doppio circa dei nuclei dei corpi di tre giorni: il resto della capsula era di colore pallidissimo, quasi scolorato. Nessun accenno di colorazione bruna in nessuno di questi nuclei. Non ci è facile dare una interpretazione certa di questi corpi; è un'alterazione regressiva dello sporozoo? è uno stadio che conduce alla formazione di corpi bruni rotondi, come se ne trovano in certe capsule che abbiamo osservate in zanzare prese in vita libera?

A queste questioni non ci è lecito dare risposta per ora; segnaliamo il fatto in attesa di spiegarlo con osservazioni ulteriori.

Nei giorni successivi, settimo, ottavo e decimo dalla puntura, si ha il reperto delle capsule rotte e afflosciate nell'intestino e il reperto degli sporozoiti nelle glandole salivari: alcune delle capsule si vedono rotte afflosciate e del tutto vuote, altre semivuote contengono granuli d'aspetto adiposo e corpi sferici appiattiti, che sono evidentemente residui di segmentazione. Nelle glandole salivari si trovano o gli sporozoiti nelle cellule nella forma stessa in cui si vedono nelle capsule, ovvero più corti e tozzi.

Un' occhiata ai nostri disegni è preferibile ad una dettagliata descrizione.

Dalla descrizione fatta fin qui risultano le differenze fra gli sporozoi del ciclo della terzana nell'*anopheles* e quelli del ciclo semilunare. Le riassumiamo.

Sono differenze:

a) *della forma dello sporozoo,* che per le semilune è o addirittura fusata tale e quale si può vedere nel sangue circolante (per i corpi di 40-48 ore), oppure ovoide, mentre per la terzana è costantemente rotonda, eccezionalmente ovale (non è escluso che nei vari casi in cui si vede uno sporozoo ovale, tale forma non sia dovuta allo stiramento dell' intestino durante l' estrazione);

b) *dell' aspetto dello sporozoo;* lo sporozoo semilunare ha, ad eguale stadio di sviluppo, contorno più netto, una rifrangenza più forte, per cui si vede bene anche con ingrandimenti piccoli; mentre lo sporozoo terzanario è più trasparente e nei primi stadi con parete poco netta e visibile solo coi forti ingrandimenti (immers. omogenea);

c) *della qualità del pigmento,* che è naturalmente identica a quella dei parassiti nell' uomo;

d) *del volume e quantità dei nuclei* nei quali si divide lo sporozoo. I nuclei dello sporozoo terzanario sono meno numerosi e più grossi di quelli dello sporozoo semilunare ad eguale stadio di sviluppo;

e) *della disposizione degli sporozoiti nelle capsule,* che nello sporozoo terzanario sono meno stipati e disposti più regolarmente una accanto all' altro, a raggiera intorno ai residui di segmentazione; tale disposizione è la più frequente.

Però vi sono anche capsule che non differiscono da quelle semilunari in modo apprezzabile.

I residui di segmentazione sono *di regola* rappresentati da parecchi blocchi granulosi di forma rondeggiante e più numerosi di quelli che si rinvengono nelle capsule d' origine semilunare.

Questi caratteri permettono quasi sempre una diagnosi differenziale tra le due forme di sporozoi. La diagnosi si fa sempre con certezza fino agli stadi che precedono la formazione degli sporozoiti, e nello stadio in cui gli sporozoiti sono belli e formati in molti casi.

Ricerche sperimentali. — Nelle varie note pubblicate con Grassi abbiamo già annunciato i risultati di alcune esperienze eseguite nell' ospedale di Santo Spirito riuscendo a produrre la comune terzana con soli *anopheles claviger.* Ma sarà bene che esponiamo minutamente come queste ricerche furono condotte, perchè nessuno possa dubitare del loro

valore dimostrativo. Crediamo si possa affermare che ciascuna di queste esperienze, succedutesi a brevi intervalli di tempo, tolga di mezzo qualcheduna delle obbiezioni, che si son fatte e da alcuni si fanno tuttora, alla teoria dell' inoculazione.

Esperienza Prima.

N. N., giovane robusto, che non ha mai avuto febbri malariche e si trova per una malattia nervosa nell' ospedale di Santo Spirito da circa tre anni, acconsente a dormire in una camera con zanzare la notte fra il 13 e 14 novembre. Il giorno prima erano stati liberati in questa camera circa un centinaio di *anopheles claviger* presi a Maccarese. Lo stesso soggetto seguita a dormire regolarmente in questa stanza fino al giorno 2 decembre: vi entra sull' imbrunire e ne esce il mattino per passare la giornata nella corsia comune.

Assicura di esser punto tutte le notti: del resto si trovano sempre nella stanza varî *anopheles claviger* col ventre pieno di sangue. Un certo numero di *anopheles* muoiono nel frattempo: però alla fine dell' esperienza se ne trovarono ancora molti in buone condizioni.

Sui primi di dicembre il paziente è indisposto ed a ha leggiere elevazioni di temperatura: il 3 dicembre ha un attacco fedbrile che comincia con brivido e la temperatura sale al massimo di 39,7. Attacchi simili preceduti da brivido si osservano nei giorni successivi fino al 7 dicembre, in cui si amministrano due grammi di chinina. Nei giorni 8 e 9 dicembre si osservano ancora leggiere elevazioni di temperatura, poi più nulla. Il paziente continua a prendere chinina, e guarisce rapidamente.

Temperatura dal 3 al 7 dicembre:

3 dicembre: 4 p., 39,8 — 6 p., 39,7 — 8 p., 39,7 — 10 p., 37,5 — 12, 37,7;

4 dicembre: apiressia fino alle 6 ant.: 8 a., 37,6 — 10 a., 38 — 12, 38,9 — 2 p., 40,2 — 4 p., 39,5 — 6 p., 37,5 — 8 p., 37,6 — 10 p., 37,7 — 12, 37,8;

5 dicembre: apiressia fino alle 10 ant.: 12 m., 39,5 — 2 p., 39,9 — 4 p., 40,5 — 6 p., 39,1 — 8 p., 38,5 — 10 p., 37,5: apiressia fino alle 8 ant. del giorno dopo;

6 dicembre: 10 a., 39,3 — 12, 40,5 — 2 p., 39,8 — 4 p., 38,7 — 6 p., 38 — 8 p., 37,1: apiressia fino alle 10 ant. del giorno dopo;

7 dicembre: 12 m., 38,7 — 2 p., 38,1 — 4 p., 38,3 — 6 p., 37,5 — 8 p., 37,3: apiressia.

L' andamento della febbre è quello di una terzana doppia. Fin dal primo attacco si trovarono nel sangue parassiti terzanari, dei quali si seguì regolarmente lo sviluppo in due generazioni, in modo corrispondente agli attacchi quotidiani di febbre. Un fatto degno di considerazione è che fin dal 6 dicembre, ossia quattro giorni o al massimo cinque dopo l' inizio della malattia, il paziente avea già nel sangue forme adulte capaci di svilupparsi nell' *anopheles*. Infatti vari *anopheles claviger* che punsero quel giorno verso le 11 ant., presentarono in seguito l' intestino medio infetto di parassiti terzanari.

Esperienza Seconda.

Avendo udito da un malato degente nell'ospedale di Santo Spirito nel quartiere di uno di noi e affetto di quartana recidiva, che tra gli operai occupati in una cava di pozzolana presso le Tre Fontane vi erano vari malati di febbri e specialmente di quartana, il 9 dicembre ci recammo sul luogo. Interrogati gli uomini e fatto l' esame del sangue dei malati, trovammo tre casi di quartana ed uno di terzana: vi erano anche altri che dicevano di aver febbri di tanto in tanto, ma prendevano chinina, e per ciò non potemmo, nè per le loro risposte nè per l' esame del sangue riuscito negativo, stabilire di quale specie d' infezione fossero affetti. Dal racconto però di tutti gli abitanti del luogo si può stabilire con fondamento che non vi erano stati casi di febbri gravi (estivo-autunnali): infatti tutti i malati, malgrado la febbre, potevano continuare il lavoro: l' abbandonavano soltanto per mezza giornata o al più per un giorno, durante l' accesso febbrile, per riprenderlo subito dopo.

Sapemmo anche dagli abitanti del luogo che fino a pochi giorni avanti si vedevano zanzare: ma poi, in seguito al notevole abbassamento della temperatura, erano tutte scomparse. Riuscimmo a trovare in una camera tenuta chiusa da parecchi giorni e in un sottoscala un discreto numero di zanzare ibernanti, tutte *A. claviger*, di cui 10 o 12 furono prese in tubi di vetro e portate a Santo Spirito.

Di queste soltanto 7 vennero utilizzate per la seguente esperienza, che fu eseguita in modo diverso dalla precedente. Non furono cioè liberate in una camera o sotto una zanzariera, facendovi poi dormire il soggetto di esperimento, come si era fatto fino ad ora. Ma furono nutrite facendole applicare *una per una* sulla pelle dell' uomo e togliendole, quando avevano il ventre pieno di sangue. Così si ha il vantaggio di conoscere con precisione il numero di zanzare che hanno punto e il momento in cui hanno punto, e di poter in seguito esaminare tutte le zanzare adoperate per una esperienza. Siccome gli *anoph.* ibernanti, risvegliatisi alla temperatura piuttosto elevata del laboratorio, diventano voracissimi, così pungono facilmente.

A questa prova si sottopose volontariamente certo A. J. degente nell' ospedale da vari anni, mai prima sofferente di febbri malariche, il quale il 10 dicembre fu punto da due delle zanzare da noi raccolte presso le Tre Fontane, l' 11 dicembre da un'altra e il 13 da 4 altre. Il paziente ebbe dunque, nel corso di quattro giorni, sette punture.

Delle sette zanzare adoperate, tre soltanto furono esaminate al microscopio: le altre quattro essendosi trovate il mattino morte e alquanto disseccate non si prestarono ad un esame accurato.

Si trovarono in una parecchi corpi pigmentati nell'intestino medio: *nulla* nelle glandole salivari. In un'altra non si vide nulla nell' intestino; invece si trozò infetto un tubulo su quattro delle glandole salinarî. Il tubulo infetto si presentava a fresco con le cellule del fondo piene apparentemente di granuli di grandezza uniforme e stipati: però in alcune cellule che hanno il contenuto in via di vuotarsi si riconosce che i granuli sono in realtà filamenti più spessi nella parte mediana e affilati nelle estremità, i quali, essendo disposti nell' interno dalla cellula salivare come a palizzata, visti in proiezione

hanno l'aspetto di granuli. Nello stesso prepa-rato fissato in formalina e alcool e colorato con ematossilina, si riconosce che i filamenti fuoriusciti dalle cellule di aspetto granuloso sono fatti di una parte centrale più spessa che si colora fortemente coll'ematossilina, e di due estremità sottili meno colorabili (sporozoiti). L'esame del terzo *A. claviger* diede lo stesso risultato: nulla nell'intestino, infette le glandole salivari.

Lo stesso risultato si ebbe dall'esame di circa 20 nuovi *anopheles claviger* che si presero il 12 dicembre nella stessa casa presso le Tre Fontane: si trovarono cioè infette soltanto le glandole salivari di alcuni. Ciò si comprende facilmente, se si pensa che a quell'epoca gli *anopheles* erano già ibernanti da un certo tempo, e non pungevano più: onde la mancanza di corpi pigmentati nell'intestino, mentre persisteva in molti l'infezione delle glandole salivari.

Questo reperto faceva facilmente prevedere il risultato positivo dell'esperimento. Infatti il 29 dicembre, dopo un'incubazione di 16 a 10 giorni, A. J. ebbe febbre nelle ore pomeridiane: il mattino dopo era apirettico, ma nel sangue aveva forme prossime a moltiplicarsi di terzana comune, che diedero nello stesso giorno un attacco febbrile col massimo di 39,6. Il 31 dicembre nuovo attacco febbrile: nel sangue si constata la presenza di due generazioni di parassiti terzanari; di più si trovano alcuni parassiti adulti, grossi, con pigmento mobile, che si vacuolizzano (gameti). Il malato venne subito chinizzato metodicamente, ed in breve tempo guarì.

A questo secondo potremmo aggiungere un terzo caso di terzana che abbiamo osservato in un individuo con semilune, il quale fu fatto pungere da parecchi *anopheles* perchè potessimo seguire in questi lo sviluppo delle semilune stesse. In questo individuo si sviluppò una terzana, dopo 17-19 giorni dalle prime punture. Non insistiamo però su questo caso, perchè non si può escludere la possibilità che avesse già un'infezione terzanaria allo stato latente, prima dell'ingresso nell'ospedale: sicchè l'esperienza non ha valore dimostrativo.

Abbiamo detto avanti che il parassita della terzana è distinguibile per caratteri morfologici dalle forme di evoluzione delle semilune nello intestino medio dell'*anopheles,* ed abbiamo accennato potersi ritenere con fondamento che la dottrina della pluralità delle specie dei parassiti malarici acquisti nuovi sostegni nei nuovi fatti osservati. Allo stesso risultato porta la ricerca sperimentale, la quale dimostra che i parassiti malarici, dall'uomo passando attraverso all'*anopheles* e da questo ritornando all'uomo, mantengono invariati tutti i propri caratteri specifici.

Infatti abbiamo sperimentalmente dimostrato che gli *anopheles claviger* appartenenti al gruppo di quelli che davano soltanto terzana comune, se vengono nutriti con sangue *semilunare* e tenuti a temperatura appropriata, pungendo di nuovo, quando il ciclo delle semilune nell'*anopheles* si è compiuto, inoculano la infezione estivo-autunnale.

Il risultato di questa esperienza è stato già annunziato nella terza nota pubblicata con Grassi. Sarà utile però, per la importanza della

cosa, che esponiamo in tutti i particolari in che modo noi l'abbiamo condotta.

Esperienza Terza.

Un malato affetto da infezione estivo-autunnale recidiva, il quale presentava nel sangue molte semilune, corpi rotondi e flagellati, fu fatto dormire dal 10 fino al 18 dicembre in una stanza in cui si erano liberati circa 50 *anopheles claviger,* provenienti da Maccarese. Questo infermo dopo 17-19 giorni dalle prime punture presentò una terzana primaverile, mentre l'infezione estivo-autunnale spontaneamente si estingueva. La temperatura dell'ambiente fu tenuta tra 18 e 22 centigradi. La maggior parte degli *anopheles claviger* punsero e s'infettarono di semilune: furono successivamente esaminati, e si trovarono nell'intestino medio le note forme caratteristiche in via di sviluppo. Si noti però che, anche negli ultimi giorni di dicembre, le zanzare rimaste nella stanza alla temperatura suddetta non presentavano nello intestino sporozoi maturi con sporozoiti, ma solo forme in via di accrescimento. Evidentemente [1] alla temperatura di 18 a 20 centigradi il ciclo di vita si compie con notevole lentezza. Invece le stesse zanzare, portate in stufa a 30 centigradi circa per alcuni giorni, diedero luogo alle forme di sviluppo ulteriore: tanto che si trovarono nell'intestino tipiche capsule piene di sporozoiti, capsule rotte e svuotate, e sporozoiti numerosi nelle glandole salivari.

Stabilito questo, tre zanzare di questo gruppo si tennero in stufa a 30° per due giorni; e il 2 gennaio, tenandole chiuse in provette, si fecero attaccare ad un nuovo soggetto, A. B., prestatosi volontariamente all'esperienza. È inutile aggiungere che il paziente non aveva mai avuto febbri malariche. Il 5 gennaio due delle stesse zanzare ripunsero di nuovo lo stesso individuo: il quale dunque ebbe, in tutto, cinque punture da tre *anopheles claviger.*

Dopo la puntura le tre zanzare vennero sezionate ed esaminate, col risultato seguente:

A cl. n. 1. — Nell'intestino moltissime capsule con sporozoiti, alcune sono rotte e completamente vuotate del contenuto. Nelle glandole salivari si trovano due tubuli infetti: in uno si vedono le cellule rigonfie, di forma ovoide, e piene di granuli di grandezza uniforme: schiacciando il preparato ne fuoriescono numerosissimi sporozoiti di forma tipica, uniformi, tutti di uguale lunghezza. Nell'altro tubulo si vedono anche cellule contenenti sporozoiti filiformi nel loro aspetto caratteristico.

A. cl. n. 2. — Nell'intestino moltissime capsule, alcune ancora integre, piene di sporozoiti, altre rotte e avvizzite contenenti un residuo granuloso: questo residuo ha un colorito giallognolo. In alcune di queste capsule rotte si vedono anche *corpi bruni,* di forma e grandezza varia, alcuni allungati, altri corti e tozzi. Nelle glandole salivari sono infetti vari tubuli, vi si vedono cellule contenenti sporozoiti tipici, cellule piene di granuli simili a quelli

---

[1] V. la 2ª nota Grassi a pag. 2 dell'estratto.

descritti per l'*A. cl.* n. 1, e cellule piene di corpi ialini, rotondi, di varia grandezza: inoltre si trovano sporozoiti filiformi tipici lungo il tubo escretore della glandola.

A. cl. n. 3. — L'intestino è pieno di sporozoi maturi: molte capsule sono rotte e avvizzite e contengono un detrito giallognolo. Altre contengono un grosso corpo centrale, di aspetto granuloso con intorno un alone ialino, e non hanno struttura riconoscibile. Le glandole salivari non si trovano infette.

Stando ai risultati di questo esame si deve dunque concludere che di tre *A. claviger* adoperati, solo due abbiano inoculata l'infezione. La sera del dì 10 gennaio il paziente ebbe senso di calore e dolor di testa, ma temperatura normale. Nei giorni 11, 12 e 13 apiressia e benessere. Il 14 (cioè dopo 9 o 12 giorni d'incubazione) vi fu apiressia fino alle otto del mattino, poi la temperatura salì rapidamente fino a 39,5 alle 12 m., e la febbre si mantenne continua fino al giorno 18 gennaio, come risulta dalle seguenti temperature:

14 gennaio: 12 m., 39,5 — 2 p., 39,4 — 4 p., 37,5 — 6 p., 37,8 — 8 p., 38,4 — 10 p., 37,5 — 12 p., 38,9.

15 gennaio: 2 a., 39,5 — 4 a., 39,5 — 6 a., 37,9 — 8 a., 37,8 — 10 a., 37,5 — 12 m., 40,4.

16 gennaio: 2 a., 40,1 — 4 a., 39,5 — 6 a., 37,2 — 8 a., 39,4 — 10 a., 39,8 — 12 m., 40,2 — 2 p., 50 — 4 p., 40,4 — 6 p., 39,5 — 8 p., 39 — 10 p., 38,5 — 12 p., 38,1.

17 gennaio: 2 a., 38,6 — 4 a., 38,2 — 6 a., 38,3 — 12 m., 38,4 — 2 p., 39,2 — 4 p., 40,4 — 6 p., 39,6 — 8 p., 39,8 — 9 $^1/_2$ p., 39.

18 gennaio: 12 p., 39 — 2 a., 38,6 — 4 a., 37,9 — 6 a., 37 — 8 a., 37.

Il giorno 16 gennaio si amministrarono gr. 2 di idrocl. di chinina per la iniezione ipod.; il 17 si diedero di nuovo 2 gr. di chinina. Il malato sfebbrò completamente il giorno 18; seguitò a prendere chinina, e, salvo leggiere elevazioni di temperatura, la sera dal 10 al 22 gennaio non ebbe altri disturbi. Guarì del tutto, rapidamente.

Nell'esame del sangue, il mattino del giorno 15 si trovarono *scarsi parassiti estivo-autunnali* con granulini finissimi di pigmento alla periferia. Il 16 si trovarono insieme plasmodi senza pigmento e con granulini in globuli normali e ottonati. I parassiti scomparvero dopo l'uso del chinino il giorno 17. Siccome l'infezione fu troncata presto, non si sono vedute le forme semilunari. [1]

---

[1] È noto da molto tempo che, chinizzando i malarici in principio di malattia, si può impedire la formazione dei corpi semilunari o ridurla notevolmente. Ora che è ben conosciuto il significato biologico di queste forme, si comprende facilmente che la cura precoce e metodica di un malarico ha importanza, non solo individuale, ma anche per la profilassi collettiva: infatti s'impedisce così che il parassita dia luogo allo sviluppo di quelle forme le quali possono continuare nelle zanzare il loro ciclo di vita e infettare quindi altri uomini.

Abbiamo in questo caso un esempio tipico di infezione estivo-autunnale cominciato con febbre continua, come suole avvenire in questo gruppo di febbri malariche. L'andamento dell' infezione è del tutto identico a quello del primo caso di febbre malarica sperimentale da puntura di zanzare (caso Sola) pubblicato da Bignami.[1] E non si può dubitare che l'infezione inoculata non sia stata precisamente quella che era stata trasmessa artificialmente da noi alle stesse zanzare, nutrendole di sangue semilunare. Infatti gli *anopheles* raccolti nella campagna in fine di novembre e per tutto il dicembre non avevano dato che comuni terzane. Si aggiunga che lo studio metodico delle altre zanzare che si erano nutrite dello stesso sangue ci aveva permesso di seguire in esse tutte le fasi di sviluppo delle sporozoo semilunare. Non si può dunque non attribuire a questo l'infezione trasmessa all'uomo. Dobbiamo per conseguenza conchiudere per i parassiti estivo-autunnali, ed evidentemente anche per quelli della terzana, che attraversando nel loro ciclo di vita il corpo dell' *anopheles claviger*, conservano inalterati i caratteri della specie.

Con questi tre nuovi casi d' infezione malarica sperimentale prodotta nell' uomo da punture di soli *anopheles claviger*, la teoria dell' inoculazione acquista un validissimo sostegno. Chi paragona queste nuove esperienze alle prime pubblicate da Bignami, le quali diedero un solo risultato positivo (caso Sola), può esser sorpreso della grandissima facilità con cui con poche zanzare e pochissime punture si è determinata l' infezione. La costanza e la sicurezza del risultato, che pareva, a chi si è occupato prima della questione, così arduo a raggiungere, è dovuta certamente a ragioni molteplici. In primo luogo, alla specie delle zanzare adoperate: perchè, sebbene si possa con fondamento pensare che altre specie di zanzare possano essere ospiti di parassiti malarici, pure certo, come tutto fa credere, almeno nella campagna di Roma, l' *anopheles claviger* come inoculatore di malaria tiene il primo posto. In secondo luogo si deve pensare alla stagione in cui le prime due esperienze sono state eseguite: infatti, sulla fine d' autunno e in principio d' inverno, quasi tutte le femmine di *anopheles* prese in certe case in campagna si mostrano infette nell' intestino o nelle glandole salivari [2]: la qual cosa si comprende pensando che tutte o quasi tutte, prima di cadere in ibernazione, si erano nutrite di sangue malarico. Come è noto, sul finire d' autunno son pochi gli abitanti della campagna che non abbiano preso le febbri.

---

[1] *Come si prendono le febbri malariche.* R. Accad. medica di Roma, 15 novembre 1898.

[2] Risulta dalle osservazioni di Grassi e nostre che circa il 75 % dei zanzaroni presi in certe case si trova infetto. (V. 2ª nota).

Si deve aggiungere che, mentre nella stagione calda vi sono per la campagna gran numero di zanzare di specie svariate; quando il freddo è incominciato, cercando nelle case, nelle stalle e nelle capanne, si trovavano soltanto, o quasi, femmine di *anopheles* in istato d' ibernazione, mentre le altre specie erano scomparse. Cosicchè, anche prendendo le zanzare a caso nelle abitazioni e nelle stalle, non si avevano che individui della specie malarica: ad esempio, l' inserviente dell' ospedale, che è andato varie volte per nostro conto a Porto a raccogliere zanzare in mesi freddi, non ha trovato che *anopheles* (salvo scarsissimi *C. pipiens*): e lo stesso è accaduto a noi ad Ostia, a Campo Jemini e alle Tre Fontane. Ne risulta che l' esperimento in Roma non può non riuscire in fine d' autunno e in principio d' inverno, quando si adoperino zanzare provenienti dalle case o dalle capanne. Gl' individui assoggettati alla prova, per ragioni facili a comprendere, sono stati pochi: ma non si deve dimenticare che quante volte si è tentato di inoculare la febbre, altrettante si è riusciti: non una sola volta l' esperimento è fallito.

Quanto al modo con cui le esperienze sono state condotte, vogliamo notare di nuovo, che, mentre la prima era stata eseguita facendo dormire il paziente in una camera dove si liberavano gli *anopheles*, nello stesso modo come si era fatto pel Sola, le ultime due sono state eseguite facendo pungere gli *anopheles*, uno per uno: il qual modo di esperimentare sfugge a qualunque obiezione. Soltanto così si è potuto avere la certezza sperimentale, che possono bastare pochissime punture di zanzare infette a produrre l' infezione. E poichè nell' ultimo esperimento con sole due zanzare infette si è ottenuto lo scopo, non si può non ammettere, che, anche una sola puntura possa bastare. La qual cosa non può fare meraviglia a chi pensi alla enorme quantità di sporozoiti, che si possono trovare nelle cellule di un solo tubulo delle glandole salivari di *anopheles*. Questo fatto risponde alla obiezione avanzata da molti, che vi son luoghi di malaria con pochissime zanzare; ma è in primo luogo alla specie e non alla quantità che bisogna rivolgere l' attenzione.

Le osservazioni fatte in Roma dall' autunno ad ora, ci permettono anche di spiegare in modo soddisfacente alcuni dati epidemiologici della terzana nella nostra campagna. È noto fin dalle prime ricerche di Marchiafava e Celli che in Roma la terzana comune domina in primavera, specialmente nei mesi di maggio e giugno: poi in principio di luglio scoppia l' epidemia estivo-autunnale, ma continua la terzana per tutto l' estate e l' autunno, sebbene per importanza clinica passi in seconda linea: nell' inverno si osservano principalmente le recidive.

Ora, gli *anopheles claviger* raccolti nella campagna nell' autunno ci hanno dato terzane: invece nel cuore dell' inverno, come è detto nella

terza nota pubblicata da noi con Grassi, non hanno provocato alcuna infezione: e nello stesso tempo, nelle nostre sale dell' ospedale di Santo Spirito, non abbiamo avuto terzane primitive, ma solo recidive; dunque durante il lungo periodo d' ibernazione, le zanzare sono, per dir così, guarite della loro infezione: almeno una buona parte di esse. Soltanto alla prima metà di marzo abbiamo cominciato ad osservare nell' ospedale qualche caso di terzana primitiva in operai venuti da poco nella campagna da luoghi non malarici: si può osser certi che in questi individui l' inoculazione della malattia doveva aver avuto luogo alla fine di febbraio. Tali casi d' infezione primitiva segnano l' inizio di quella che Marchiafava e Celli hanno chiamato l' endemia primaverile. Evidentemente queste nuove infezioni non possono spiegarsi che col trasporto indiretto da uomo a uomo: ai primi calori di una primavera precoce, gli *anopheles claviger,* destandosi dallo stato d' ibernazione, hanno ricominciato a pungere: alcuni evidentemente si sono infettati di nuovo sui terzanari recidivi, numerosi nella campagna, e, dopo il periodo di tempo necessario, hanno prodotto, pungendo i nuovi operai venuti nell' agro, le nuove terzane.

Possiamo riassumere i risultati di questo lavoro in poche proposizioni.

Le grosse forme pigmentate dei parassiti terzanari, incapaci di moltiplicarsi nell' uomo, si possono distinguere morfologicamente in due categorie: alcune con grosso nucleo vescicolare e poca cromatina rappresentano individui femminili (macrogameti), altre più ricche di cromatina gl' individui maschili (microgametociti dei zoologi). Nell' intestino medio dell' *A. claviger* dagli individui maschili fuoriescono generalmente sei microgameti (flagelli): uno dei quali feconda un macrogamete, dopo che la cromatina di questo ha subito un processo di riduzione. Il macrogamete fecondato penetra nell' intestino medio dell' *anopheles,* dove si sviluppa percorrendo un ciclo di vita simile perfettamente a quello descritto da Ross per il proteosoma degli uccelli nel *grey mosquito,* e da noi con Grassi per le semilune nello stesso *anopheles claviger.*

In questo ciclo di vita lo sporozoo terzanario si mantiene distinguibile per caratteri morfologici da quello di origine semilunare: le forme giovani si distinguono principalmente per la forma dello sporozoo e per i caratteri del pigmento: le forme in via di sviluppo, per il volume dei corpicciuoli prodotti successivamente dalla divisione nucleare: le forme mature con sporozoiti si distinguono in generale per la grandezza e disposizione dei residui di segmentazione, forse anche per la grossezza degli sporozoiti. La distinzione della specie dei parassiti malarici si mantiene dunque inalterata. Alla stessa conclusione porta anche l' esperimento terzo, il quale dimostra che le semilune passando attraverso *anopheles*

claviger, che avevano dato prima soltanto terzana, mantengono intatti i loro caratteri specifici.

Lo studio della vita degli *anopheles* nella campagna di Roma spiega in modo soddisfacente il comportamento della terzana nell' avvicendersi delle stagioni.

È sperimentalmente dimostrato che bastano pochissime punture, certo anche una sola, di *anopheles* infetto, per produrre nell' uomo l' infezione.

Roma, 19 aprile 1899.

AGGIUNTA.

In una delle conclusioni di questo articolo è detto che la distinzione della specie dei parassiti malarici si mantiene inalterata anche nel ciclo anofelico. Questa conclusione derivava dalle differenze morfologiche da noi riscontrate tra gli sporozoi terzanari ed i semilunari e dal risultato dell' Esperimento III, il quale dimostrava che le semilune passando attraverso *anopheles claviger* che avevano dato prima soltanto terzana, mantengono intatti i caratteri specifici.

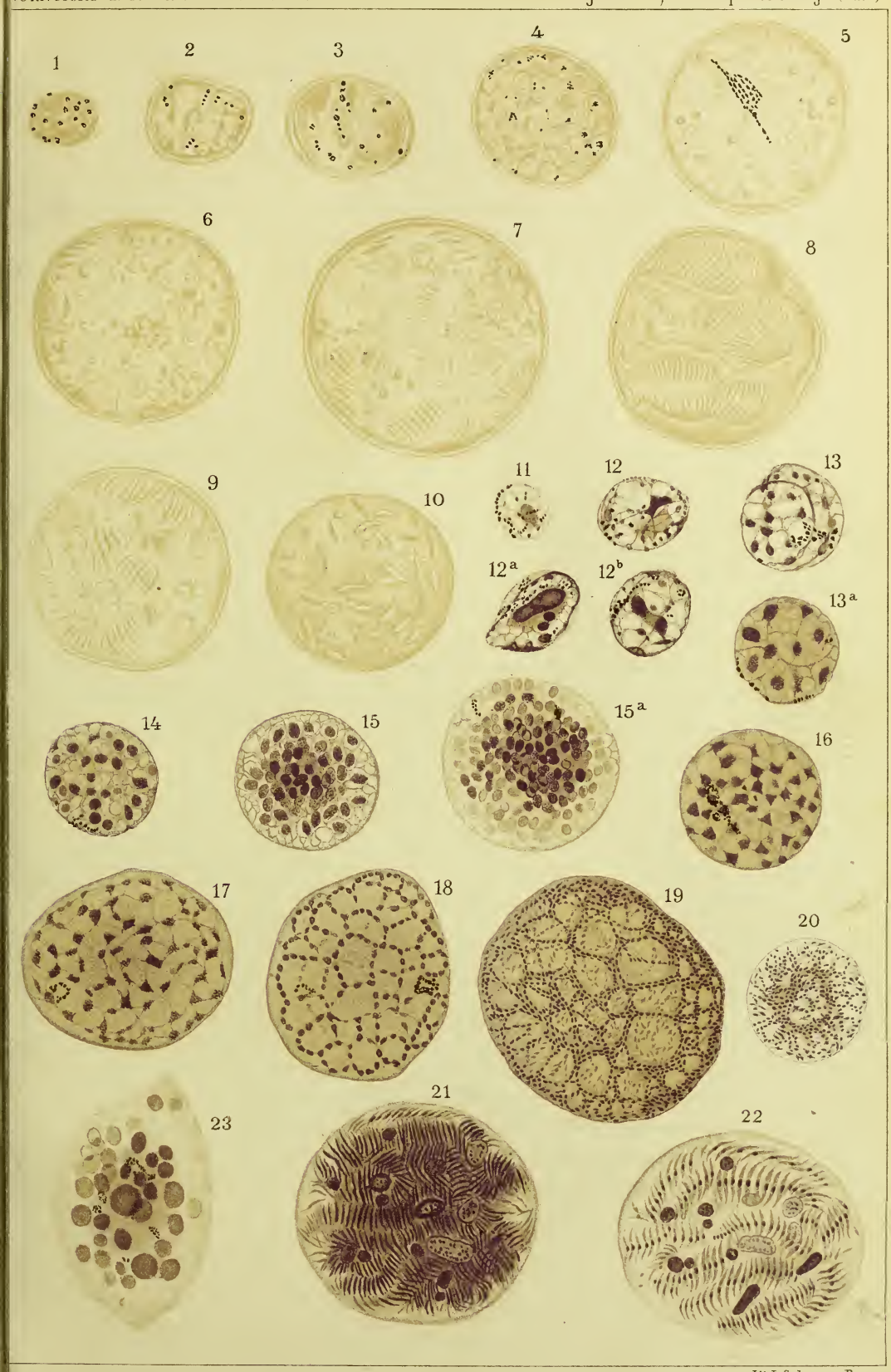
A completare la prova era necessario constatare lo stesso fatto per la terzana sperimentando nelle stesse condizioni in cui si sperimentò per le semilune.

Perciò ottenuto lo sviluppo degli *anopheles* da larve nate da uova deposte in laboratorio, questi furono infettate di terzana e tenuti a temperatura di 25°-26° dal 14 al 25 di luglio. L' infezione di questi *anopheles* ebbe luogo in giorni diversi essendo gli insetti tenuti in una stanza liberi con l' infermo affetto da terzana.

Il 25 luglio sei *anopheles* furono posti in stufa a 30°, e di questi *due* punsero nelle ore pomeridiane del 28 un individuo che si prestò volontariamente e che mai era stato malato di malaria.

Il 30 luglio alle 12 m. gli stessi due *anopheles* (tenuti di nuovo in stufa dal 28 sera) punsero di nuovo lo stesso individuo: il 2 agosto non vollero più pungere e furono sezionati. Si trovarono in uno corpi maturi nell' intestino con sporozoiti, non capsule rotte; nel secondo pochi corpi avvizziti nell' intestino, sporozoiti nelle glandole salivari.

Il soggetto ebbe il 16 agosto un attacco febbrile che cominciò con brivido dopo mezzogiorno; la temperatura salì a 39° e cadde con sudore. Nel sangue scarsissime forme terzanarie.



Lit. L. Salomone - Roma

Il 17 agosto mattina apiressia. Alla sera nel sangue si trovano parassiti terzanari grandi $^1/_4$, $^1/_3$ di gl. rosso ed uno grande $^2/_3$ di gl. rosso. Una forma pigmentata grande con pigmento mobilissimo (gamete).

Con questo esperimento il ciclo del parassita della terzana è completo. Ognuno vede che esso conferma il principio stabilito nelle nostre conclusioni.

Sentiamo il dovere di ringraziare il comm. Ballori per gli aiuti che ha dato ai nostri studi nell' Ospedale di Santo Spirito.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE.

Tavola VIII.

Fig. 1. Corpi terzanari. Anopheles sezionato circa 40 ore dopo che aveva succhiato sangue contenente parassiti terzanari.

Fig. 2-3. Parassiti terzanari dopo tre giorni di sviluppo nell' intestino medio dell' *anopheles*.

Fig. 4. Parassiti terzanari di quattro giorni: si vedono a fresco i nuclei prodotti da successive divisioni.

Fig. 5-6. Parassiti terzanari. Corpi di cinque giorni.

Fig. 7-8-9. Parassiti terzanari. Corpi contenenti sporozoiti maturi al sesto, settimo ed ottavo giorno.

Fig. 10. Cellula di glandula salivare, rigonfiata, senza nucleo riconoscibile, contenente sporozoiti tozzi e raccorciati.

Le figure precedenti sono disegnate da preparati di *anopheles* fissati in formalina, senza alcuna colorazione.

Fig. 11. Corpo terzanario col nucleo non diviso. Fissazione in formalina e alcool; colorazione con ematossilina Böhmer.

Fig. 12, 12-A e 12-B. Prime fasi della divisione.

Fig. 13-18. Varie fasi della divisione nucleare fino allo stadio che precede la formazione degli sporozoiti.

Fig. 19. Stadio degli sporozoiti (sei giorni).

Fig. 20. Piccolo corpo contenente sporozoiti rinvenuto nella stessa zanzara da cui fu disegnato il corpo precedente.

Fig. 21. Corpo contenente sporozoiti e residui di segmentazione (ottavo giorno).

Fig. 22. Lo stesso schematizzato: è disegnata una sola sezione ottica.

Fig. 23. Corpo cistico contenente nuclei di varia dimensione. (Vedi nel testo la descrizione a pag. 282).

Istituto d'Igiene dell'Università di Roma

SULL'IMMUNITÀ DALL'INFEZIONE MALARICA

RICERCHE

DI

ANGELO CELLI

Quest'argomento dell'immunità dall'infezione malarica, per quanto è molto importante dal punto di vista scientifico e sociale, per altrettanto venne poco finora studiato.

In altre malattie infettive è noto che si può avere un'immunità naturale, congenita o di razza, ed una immunità acquisita o consecutivamente alla malattia sofferta, od artificialmente. Vediamo quindi come queste varie specie d'immunità si comportano verso l'infezione malarica.

1. — Immunità naturale.

Lind [1] e Pringle [2] già osservarono che durante la guerra d'Olanda l'armata inglese era colpita da febbri di malaria, che invece rispettavano gl'indigeni. Analogamente l'Ungheria per due secoli fu « la tomba dei tedeschi ». Così queste due nazioni, fra la relativa immunità dei loro abitanti, han veduto più volte annientarsi in qualche settimana gli eserciti stranieri che le andavano ad occupare nella stagione delle febbri.

Boudin, [3] poi, ha insistito più specialmente sulla preservazione dei Negri dalla malaria, sopratutto però in quei loro paesi malsani ove sonosi acclimatati.

---

[1] *Essai sur les maladies des Européens dans les pays chauds.* Tradut. Paris, 1785.

[2] *Diseases of the Army.* London, 1768.

[3] *Acclimatement des races humaines sur divers points du globe* (*Recueil des Mémoires de Médecine militaire,* 3e série, t. XII, XIII, XV).

Nella storia medica [1] della spedizione inglese nel Niger (1841-42) è citato il fatto che di 545 bianchi 130 ammalarono di febbri, mentre di 25 negri imbarcati in Inghilterra n' ammalarono 11, e dei 130 di questa razza, reclutati in Africa, non ne ammalò nessuno; ciò che dimostra, come già fece notare il Laveran, che questa relativa immunità dei Negri non dipende propriamente dalla razza, ma dal loro adattamento alle condizioni miasmatiche locali.

Anche Hirsch [2] fa notare la possibile frequenza della malaria fra i Negri in Abissinia.

L. Colin [3] nega pure una speciale immunità della razza nera, e nota che fra le truppe francesi di occupazione a Roma si riscontravano, come in Algeria, forme malariche quali si osservano raramente negli indigeni o in quelli che vi risiedono da tempo; e quindi, più che alla razza per sè, dà importanza all'adattamento all'ambiente malarico.

A questo adattamento, fin dal 1879 [4] e poi nel 1882, [5] dà gran peso anche il Tommasi-Crudeli, osservando come « il grado di resistenza che ogni singolo individuo può opporre all' aggressione della malaria è talvolta ereditario fino al punto da diventare caratteristico d' una razza umana. Fra le razze bianche, alcune delle italiane, per esempio l'abruzzese e la romana, presentano una resistenza maggiore di molte altre; e non è improbabile che questa resistenza sia dovuta ad una cernita naturale, operata dalla malaria stessa in popolazioni che da secoli e secoli abitano gran parte dell' anno in luoghi malarici ». E con esempi storici, e con la patologia comparata della malaria fra i buoi, illustra largamente e poi ripetutamente anche in successive pubblicazioni questa legge darwiniana della cernita naturale, per rispetto alla malaria.

E. Maurel, [6] a sua volta, avendo potuto vedere nella Guyana francese le quattro razze dell'uomo in lotta con la malaria, dice che se qualche dubbio v' è ancora per le pelli rosse e per una varietà di razza mongolica (Annamiti), si può affermare che tutte e quattro subiscono più o meno l' influenza di questa malattia; però di esse la razza caucasica resiste di meno, la razza nera invece, e in un grado ben marcato, resiste di più.

---

[1] Cit. da LAVERAN; *Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales.* Articolo: *Antagonisme.* Parigi, 1867.

[2] *Handbuch der historisch- geographischen Pathologie.* Erlangen, 1860, 1ª ediz.

[3] *Traité des fièvres intermittentes.* Paris, 1870.

[4] *Sulla distribuzione delle acque nel sottosuolo dell' Agro Romano e della sua influenza nella produzione della malaria. Atti dei Lincei,* 1880.

[5] *Istituzioni di Anatomia patologica,* vol. I. Torino, 1882.

[6] *Traité des maladies paludéennes à la Guyana.* Paris, 1883.

Ma W. H. Welch [1] dice che le sue osservazioni negli ospedali di Baltimore tendono a dimostrare che la suscettibilità del Negro alla malaria è soltanto di $^1/_3$ meno che quella del Bianco.

E infine F. Plehn [2] e R. Koch [3] assicurano che nell'Africa Orientale i Negri della costa malarica ammalano solo di febbri leggiere o ne restano immuni, mentre i Negri di regioni sane, quand'arrivano sulla costa malarica, sono colpiti da febbri così gravi come quelli di razza bianca.

Cosicchè dunque, *per consenso quasi unanime degli autori, nessuna razza, neppure quella nera, ha per sè un' immunità congenita o ereditaria verso la malaria; però così la nera come la bianca possono più o meno adattarsi a resisterle.*

Di questo vario adattamento che le nostre diverse popolazioni spiegano verso la malaria abbiamo ogni giorno sott' occhio parecchi esempi qui nella Campagna di Roma, dove abbiam visto e vediamo vivere insieme o da vicino Romagnoli e Abruzzesi in Ostia, Marchigiani e Ciociari in varie tenute lungo il litorale (p. es. a Conca, Campomorto, Carano, Campojemini), Veneti e Indigeni presso Terracina. Quest' ultima colonia di 65 Veneti fu sterminata dalla malaria; varie delle colonie marchigiane, quelle cioè dei siti più malarici, sono in dissoluzione; e la colonia agricola ravennate lotta ad armi ineguali contro la stessa causa morbosa, mentre le popolazioni abituate da secoli a vivere in questi luoghi malsani vi resistono a bastanza bene.

Per comprendere esattamente il meccanismo di questa relativa immunità degli Abruzzesi, dei Ciociari e degli Indigeni è necessario avere un' idea delle abitudini della loro vita, che per esperienza tradizionale s' è venuta egregiamente orientando contro la malaria.

Gli Abruzzesi e i Ciociari, che vengono da lontano, vivono dentro capanne di paglia, poste sempre nei siti più elevati e ventilati. Verso la sera, finito il lavoro, vi riparano dentro e vi accendono in mezzo de' fuochi per preparare il pasto, e così si riscaldano, mangiano e poi vanno a dormire, mentre il fumo del focolare nel mezzo della capanna ha scacciato e discaccia le zanzare e gli altri insetti aerei. Nell'estate, poi, compiuta appena la raccolta del grano, tornano alle loro montagne, ove l'aria è buona, e non ne ridiscendono che nell'autunno, più tardi che possono.

---

[1] *Malaria.* Welch and Thayer. Excerpt from « *A system of Practical Medicine by American Authors* », 1897.

[2] *Die Kamerun-Küste. Studien zur Klimatologie, Physiologie, und Pathologie in den Tropen.* Berlino, 1898.

[3] *Reise-Berichte.* Berlin, 1888. — *Aerztliche Beobachtungen in den Tropen.* Berlin, 1898.

Gl' Indigeni, poi, hanno le loro case costruite da secoli sulle più alte montagne o colline soprastanti alle pianure malariche, ove sanno bene quanto sia pericoloso il trattenervisi di sera e di notte, e perciò, quando lo possono, molto prima del tramonto del sole cessano di lavorare e ritornano sulle loro alture.

Evidentemente queste sono vere e proprie norme profilattiche abitudinarie, egregiamente dirette contro la malaria; mentre invece le popolazioni che a questa non sono abituate continuano qui i loro modi di vita dei luoghi salubri, senza alcuna regola preventiva nè contro i veicoli dell' infezione, nè contro quella massima fra le cause predisponenti organiche qual è il raffreddamento.

Bastano però cosiffatti costumi di vita a spiegare sempre, in ogni caso, questa relativa immunità per la malaria?

Ho voluto, a questo scopo, studiare la popolazione indigena d' una regione delle più malariche, nella palude pontina.

Grazie all' intelligente e premuroso aiuto del dott. Tosti, medico di Sezze Romano, posso presentare le seguenti storie di individui naturalmente immuni che vivono in questa località.

Carnebianca Giuseppe, d' anni 47, nato a Sezze. Nè il padre nè la madre, entrambi di Sezze, soffrirono mai di febbre; il padre era campagnuolo e insieme notaro.

Dall' età di 12 anni sino a 17 fece il campagnuolo in montagna, da 17 a 20 visse nelle paludi. Fu poi soldato per 5 anni.

Dopo, dal 1876, visse sempre in palude, nella parte più bassa, dormendo molto spesso all' aperto nei mesi dei raccolti, e non di rado uscendo di notte.

Non ebbe mai febbri, non prese mai chinino.

Ha una bambina di 3 anni, che ha sofferto d' infezione malarica.

Beve da $^1/_2$ a 1 litro di vino ogni giorno, mangia spesso carne, di rado polenta.

Ha aspetto florido, colorito roseo.

La milza ha i diametri di 7×9 cm.

Non ha avuto malattie di sorta.

Le zanzare lo pungono, ma non fanno bolle.

Aiuti Lorenzo, d' anni 51, nato a Sezze. Suo padre pure era nativo di Sezze, ove faceva il macellaio, e morì di morte violenta. Sua madre è ancora vivente; è nata anch' essa a Sezze ed è donna molto robusta.

Egli, sino dall' età di 6-7 anni, ha fatto sempre la vita in palude, andando avanti e indietro in qualità di lavorante. Per es., nel mese ultimo di luglio (1898), sino al 10 agosto, ha fatto la trebbiatura, e poi ha seguitato sempre ad andare avanti e indietro per la palude.

Si può dire che da primavera sino a ottobre dorme sempre all' aperto.

Non ha sofferto mai di febbri, nemmeno da piccolo.

Ha tre figli maschi, campagnuoli. I primi due furono sempre immuni; il

più piccolo, di anni 11, ha sofferto molto di febbri ed è stato cachettico. Ora, però, s' è rimesso benissimo.

Beve vino ogni 8-15 giorni; mangia polenta e, nei mesi d' estate, pane.

Ha un aspetto florido, colorito roseo.

Milza di diametro 6 × 10 cm.

Soffre di punture di zanzare, le quali lasciano bolle appariscenti sulla sua pelle.

Campoli Antonio, d' anni 29, nato a Sezze. Il padre era nativo di Veroli, e visse sempre, sino dall' infanzia, nel cuore delle paludi pontine. Avea sofferto di febbri, ma non a lungo. Con poco chinino riusciva presto a liberarsene. Morì di polmonite in età di 60 anni. La madre era nativa di Sezze e non visse mai nelle paludi.

Il Campoli ha esercitato sempre il mestiere di massaro, restando tutta la settimana al casale, in mezzo alla palude.

La sola domenica, e non sempre, torna a Sezze. — Talora abita per mesi interi in palude, senza abbandonare mai la masseria.

Ha 5 figli: il più grande ha 12 anni ed ebbe più volte le febbri, ma da un anno a questa parte sta bene in salute.

Beve vino 3-4 volte la settimana, di rado mangia carne, ma si ciba di pane di granturco, non di polenta.

Ha un aspetto molto robusto, ha un bel colorito roseo.

La milza è nei limiti normali (6,5 × 9 cm.).

Le zanzare lo pungono, ma la puntura non gli arreca fastidio e solo di rado ne rimane per qualche ora la traccia.

Sauzzi Pietro, di anni 33, da Sezze. Suo padre, campagnuolo nelle paludi, mai ebbe le febbri; sua madre abita a Sezze ed è stata sempre bene.

Dall' età di 13 anni fa il cavalcante, vivendo ora nelle paludi, ora nella Campagna Romana. D' inverno dorme in capanne, d' estate sempre all' aperto. In genere non dorme che pochissime ore, stando in giro gran parte della notte. Rare volte, e per poco tempo, ebbe le febbri, che guarirono sempre spontaneamente. Una sola volta prese chinino.

Ora beve vino una volta la settimana, di rado mangia carne; d' inverno si nutre di polenta, d' estate di pane e minestra.

Ha aspetto florido e colorito roseo; la milza ha i seguenti diametri: 6 × 9 cm.

Le punture delle zanzare producono facilmente bolle sulla sua pelle. D' estate, tutte le mattine, si sveglia colla faccia gonfia per le numerose punture.

De Rosa Francesco, d' anni 60, nato a Sezze. Suo padre era campagnuolo e visse in palude senza prendersi mai le febbri - a quanto ricorda il figlio. - Certo che arrivò all' età di 75 anni vegeto e robusto.

Nemmeno la madre, quantunque vivesse in palude, sofferse mai di febbri.

Un suo fratello, invece, morì a 20 anni di cachessia malarica.

Il De Rosa Francesco sta da 52 anni in palude, facendo il contadino e il bovaro e lavorando a qualunque ora, anche di notte e prima del sorger del sole. Salvo che d' inverno, ha sempre dormito all' aperto.

Due anni or sono prese le febbri, ma le troncò subito col chinino.

Beve vino molto di rado e senza eccedere nella quantità. Non mangia mai carne, ma tutti i giorni si ciba di pane, e di minestra una volta la settimana.

D' inverno mangia più spesso polenta che pane.

Ha un figlio di 10 anni che, da 5 anni, batte la palude senza mai ammalarsi di febbre.

Ha aspetto florido, colorito roseo. Milza di 7 × 9 cm.

Soffre di punture di zanzare, le quali lasciano per lo più una macchia rossa, senza far bolla.

Come nel territorio di Sezze, così anche in altri luoghi di malaria grave vivono altri immuni per immunità congenita. P. es., il dott. Maggi, medico comunale dell' Agro romano, ne ha trovati 4, veramente tipici, a Carano, Conca e Campomorto. E quindi non v' ha dubbio che *in luoghi di malaria anche gravissima v' hanno individui che ne sono naturalmente immuni.*

La loro immunità in alcuni di questi fortunati sembra ereditaria; in altri no. Per tutti è certo che non dipende da abitudini o costumi di vita; si può dire anzi che si mantiene ad onta degli strapazzi, del lavoro eccessivo, dell' alimentazione scarsa, e ad onta delle punture di zanzare, con tutta probabilità malariche.

Dunque si deve trattare d' una vera e propria immunità organica.

Ma quale ne sarà l' intima natura?

Ho tentato indagarla sperimentalmente.

E qui una volta per sempre mi preme dichiarare che in tutte le esperienze che seguono, ho sempre avuto cura:

1° Che il malarico, prima di estrarne il sangue da inoculare, fosse stato in osservazione, senza chinino, per almeno 1-2 accessi, e così rimanesse per l' accesso seguente, onde controllare coll' esame del sangue la forma clinica e l' andamento dell' infezione;

2° Che subito fin dal primo accesso della malaria sperimentale l' esame del sangue fosse praticato e ripetuto fino ad accertar la diagnosi;

3° Che la cura specifica fosse pronta ed energica in modo da evitare, come ho potuto evitare, le recidive, troncando, appena fatta la diagnosi, per lo più dopo il primo accesso, il decorso dell' infezione, ciò che di regola riesce molto facilmente;

4° Che infine si scegliessero per le esperienze individui che vi si prestassero.

Per comodità di tecnica, il sangue malarico volta per volta fu estratto con un piccolo salasso, immediatamente defibrinato, e inoculato $^1/_4$-$^1/_2$ ora dopo.

Or bene, dai 5 immuni di Sezze, dopo riconosciuti liberi d' ogni altra infezione, potei ottenere, con piccoli salassi, 135 cc. di siero; agitando il sangue durante e dopo la coagulazione, feci sì che questo siero fosse colo-

rato per emoglobina. E provai se avesse alcun'azione preventiva contro la malaria sperimentale. Eccone il risultato:

11-28, IX, 1898. Inoculazione sottocute del siero c. s.

28, IX, 1898. Inoculazione di 0.5 cc. di sangue terzanario primaverile.

5, X, 1898. Febbre con reperto caratteristico del sangue, dopo una incubazione di soli giorni 6.

Sicchè *non nel siero e non nei globuli del sangue, che si posson dissolvere nel siero, si riesce finora di mettere in evidenza principî immunizzanti contro l' infezione da malaria;* ciò che del resto si verifica anche nel sangue o naturalmente immune da infezioni batteriche.

Non riuscendo finoggi sperimentalmente, si può con *esempi di analogia* illustrare questo meccanismo dell' immunità naturale dell' uomo verso la malaria?

La malaria bovina ci offre quest' analogia nel senso che mentre le razze importate nei luoghi malsani ne sono colpite, le razze indigene sono invece molto resistenti. Or bene, il Koch [1] sostiene che ciò provenga dall'aver quest' ultime sofferto la forma leggiera di questa malaria. Il che è un' ipotesi finora non dimostrata. E poi se lo fosse, non potrebbe senz' altro estendersi alla malaria dell' uomo, perchè in questa si possono contemporaneamente avere nell' istesso sangue i parassiti della infezione mite e di quella grave, e chi nella primavera ha sofferto quella mite, quartanaria o terzanaria, può contrarre quella grave nel luglio o nell' agosto. E poi c' è da osservare che nella malaria umana, e forse anche in quella bovina, alle varie forme di febbri corrispondono specie differenti di parassiti.

E neppure può essere accolta l' altra ipotesi del Koch [2] cioè che la comparsa delle semilune nel sangue indicherebbe che l' organismo è diventato un terreno inadatto pei parassiti malarici e per un tempo più o meno lungo è diventato immune. Invece con tutte le semilune si possono avere accessi febbrili con nuove generazioni parassitarie, e purtroppo talvolta accessi di perniciosa anche letali. E d' altronde oggi sappiamo bene che le semilune non sono che le forme parassitarie destinate ad assicurare la riproduzione sessuale della specie fuori dell' uomo.

Ma, in conclusione per quanto sia ancor difficile a spiegare, il fatto è indiscutibile che nei luoghi di malaria, anche la più intensa, vi sono individui naturalmente immuni da questa infezione.

Vedremo che v' hanno degli immuni anche dalla malaria sperimentale.

---

[1] Loc. cit.

[2] *Reise-Berichte,* p. 104.

2. — Immunità consecutiva alla malattia sofferta.

Tutti gli autori convengono che questa è proprio il tipo delle malattie che non lasciano dietro di sè immunità alcuna, ma invece predispongono a sempre nuovi attacchi.

Io però fin dall'anno passato [1] annunziai che l'immunità per la malaria può essere non solo congenita ma eziandio consecutiva alla malattia lungamente sofferta. Il Koch [2] ha osservato lo stesso fatto anche nelle regioni tropicali.

Fin d'allora io basava la mia asserzione sul fatto ben noto che le febbri malariche gravi sono infrequenti nei malarici cronici e nei cachettici, e, più di tutto, sulle storie cliniche seguenti:

Tinti Benedetto, d'anni 58, nato a Montefiorito, luogo d'aria buonissima. I genitori non lasciarono mai il loro paese salubre, nè mai ebbero febbri. Dall'età di 28 anni è guardiano sulla linea Roma-Maccarese. Il primo anno, d'agosto, ebbe subito febbri malariche gravi, e le portò per 4 anni, arrivando alla cachessia, con enorme tumore splenico. Le febbri aveano spesso il tipo quotidiano, e le recidive erano tenaci, tanto che, pel periodo di quattro anni, dovette sempre alternare ospedale e lavoro.

Di febbri malariche ha perduto due mogli e otto figli. Ma egli godè sempre, dopo quei 4 anni di febbri, ottima salute, e man mano andò migliorando e guarendo della sua cachessia.

Solo l'anno scorso (1898) ammalò di febbri in agosto, ma di febbri leggiere, che mai lo costrinsero al letto, e cessarono completamente in settembre. In questo periodo si curò con chinino e arsenico.

Presentemente gode buona salute, ha la pelle e le mucose colorite, la milza nei limiti normali.

È punto da zanzare, che producono bolle sulla sua pelle.

È il solo superstite di quei del personale di manutenzione della linea Roma-Civitavecchia, che presero servizio insieme a lui su questa linea.

De Simone Donato, d'anni 33, da Atri, luogo d'aria buona. Suo padre, venuto in campagna di Roma, sofferse le febbri malariche.

Nel 1889 diventò cantoniere della ferrovia Roma-Tivoli, e fu nell'anno stesso colpito dalle febbri, che si ripeterono negli anni successivi; sino al punto che nel 1893, ad onta dell'uso abbondantissimo di chinino, arrivò al più alto grado di cachessia malarica, con enorme tumore splenico. Fu dovuto allontanare dalla linea e fu mandato a rimettersi a Cineto Romano, luogo d'aria salubre. Qui migliorò tanto, che, dopo un anno, volle ritornare al suo ufficio di cantoniere sulla linea Roma-Tivoli.

---

[1] Soc. ital. per gli studi della malaria. 1ª Relazione annuale. 3 dic. 1898.

[2] Loc. cit.

Dal 1894 in poi non ebbe più febbri, e nell'anno passato fu uno dei tre soli immuni di tutta la linea. Nel suo casello ammalarono di febbre la moglie e i suoi tre figli, uno dei quali morì di perniciosa.

È punto da zanzare.

Il fegato e la milza sono nei loro limiti fisiologici. L'aspetto è sanissimo, il colorito buono.

Calisti Augusto, d'anni 37, da Gavignana Sabina, cantoniere ferroviario.

Suo padre in sua vita soffrì pure di malaria, e morì di emorragia cerebrale.

Dopo aver goduto sempre ottima salute, nel 1889, vicino a Monterotondo, ebbe una perniciosa, e poi febbri malariche recidive per 49 giorni.

In seguito ha sempre abitato in luoghi d'aria cattiva, ed è stato sempre bene in salute.

Nell'anno passato (1898) egli fu il terzo degli immuni di tutto il personale della linea Roma-Tivoli. Nel suo casello, in questi ultimi due anni, s'ammalò di febbri tutta la sua famiglia, ossia la madre, la moglie e cinque bambini.

Quest'anno ha avuto due accessi di febbre che ha ceduto subito al chinino.

Non ha tumore splenico, ha un buonissimo aspetto di salute, ed è punto da zanzare.

Conti Giulio, di anni 25, nato in Campagna di Roma da una famiglia di cantonieri della ferrovia Roma-Monterotondo.

Suo padre morì di perniciosa a Castel Giubileo, sua madre ha pure sofferto di febbri più volte.

Egli sofferse gravemente di febbri sin dall'infanzia, tanto che a 6 anni era arrivato alla cachessia malarica. Poi si rimise in salute, e da allora in poi ha prese un solo grammo di chinino. Nell'anno 1893 venne al km. 24 della linea Roma-Tivoli, e dopo 6 giorni prese le febbri che gli durarono a lungo.

Nel 1894 fu traslocato a Salone, sulla stessa linea, e per due mesi riebbe le febbri e molto più gravi dell'anno avanti.

Nel 1895 e 96 riebbe le febbri, ma poche e leggiere.

In tutti questi anni, anche quando pur lo tormentava la febbre, non prendeva mai chinino, ma andava a cambiar aria.

Nel 1897 fu a Cervara, ove l'aria è pessima, e stette sempre bene. Così nel 1898 fu uno dei tre soli che su questa linea furono risparmiati dalla malaria.

Ha aspetto florido, milza normale. È punto da zanzare, che gli fanno bolle sulla pelle.

Ha una bambina finora immune dalla malaria.

Lilloni Giuseppe, d'anni 42, d'Assisi, luogo saluberrimo. I suoi genitori non furono mai in luoghi malarici.

A 17 anni venne a lavorare come contadino in Campagna di Roma, e dopo un anno prese le febbri, che gli durarono 14 mesi e lo ridussero sino alla cachessia.

Tornato al suo paese natio, si rimise poco a poco in salute. Guarito che fu, tornò nell'Agro Romano. Visse tre anni alle Capannelle, quattro anni nella pianura di Segni. Ora da tre anni è a Bocca di Leone.

In tutti questi anni non ha sofferto più di febbri.

Nell'anno 1898 di malaria grave è stato, fino all'ottobre, il solo, a Bocca di Leone, immune dalle febbri fra tutti i suoi compagni d'azienda.

Anche sua moglie e i suoi tre figli ne furono colpiti. Sull'ultimo dell'epidemia ne fu colpito anche lui, ma in modo non grave, e così da liberarsene abbastanza presto mercè della cura specifica.

Da queste 5 ultime storie cliniche risulta evidente che *l'immunità consecutiva alla malaria sofferta si raggiunge per lo più passando attraverso la cachessia palustre, talora anche dopo un' infezione acuta di breve durata: essa è indipendente dalla cura fatta o no col chinino, ed è sempre meno stabile e duratura di quella congenita.*

Quale sarà il meccanismo di questa immunità consecutiva?

Anche qui gli esempi di analogia con altre malattie da protozoi non ci soccorrono. Ad es., in quella malattia che va col nome di Surra si ha scomparsa e ricomparsa degli emoparassiti, ma immunità consecutiva alla malattia sofferta non si ha. Nella malattia dei ratti causata da tripanosomi si avrebbe secondo la Rabinowitsch e il Kempner[1] un' immunità consecutiva per soli due mesi. E s'avrebbe anche una sieroimmunità attiva e financo una sieroimmunità passiva; ma gli esperimenti dai quali scaturirebbero queste conclusioni sono troppo pochi.

D'altronde avevo tentato anch'io di rischiarare il meccanismo di questa immunità consecutiva alla malattia sofferta, studiando al lume della sieroterapia l'origine della defervescenza febbrile e della guarigione spontanea delle febbri malariche.

A) Genesi della defervescenza febbrile.

Si può ricollegare con le ipotesi emesse per ispiegare la febbre malarica. Una di queste ipotesi suppone che per opera degli emosporidi si prepari una tossina pirogena, che verrebbe poi a sua volta neutralizzata da una antitossina che, per reazione dell' organismo, si andrebbe formando e arriverebbe al suo massimo nella defervescenza febbrile.

Così con questa medesima ipotesi tossinica si spiegherebbero la maggior gravezza delle febbri estivo-autunnali, e più in ispecie la necrosi rapida

---

[1] *Zeitschrift für Hygiene,* etc., vol. XXX, 1899.

dei globuli rossi appena invasi dal parassita (globuli rossi ottonati di Marchiafava e Celli), le necrosi estese dell'epitelio renale nella perniciosa (Bignami) senza che se ne trovino le cause in alterazioni delle pareti vasali, e infine la stessa emoglobinuria malarica.

Alcuni anzi arrivano fino a ritenere che in tutte le febbri da malaria la distruzione dei globuli rossi sarebbe prodotta in gran parte da sostanze tossiche fabbricate dagli emosporidi. Contro questo modo di vedere Bignami e Dionisi [1] elevarono dubbi basandosi su ricerche anatomopatologiche e sperimentali. Bignami [2] ha soggiunto che se una sostanza tossica anemizzante fosse prodotta da parassiti malarici dovrebbe passare dal sangue della madre in quello del figlio e anemizzarlo, mentre è sorprendente trovare ricco di sangue il feto di donna morta gravemente anemica per malaria o con malaria in atto.

Una prova indiretta della tossina malarica alcuni han creduto trovarla nell'aumentato coefficiente tossico dell'urina e del sudore dei malarici. Ma in qualunque stato febbrile, per la maggiore attività delle metamorfosi regressive, si eliminano prodotti che possono anche essere tossici, ma che nulla hanno a che fare con le tossine specifiche.

Per la dimostrazione di queste occorre una prova diretta che finora nessun ha dato.

E per darla non ci soccorrono neppure argomenti di analogia con altre infezioni da protozoi. P. es., Kanthack, Durham e Blandford [3] nella malattia che va col nome di Nagana, ed è la stessa o quasi della già menzionata Surra, hanno escluso la presenza d'ogni veleno nel sangue. Nella malaria degli uccelli e dei rettili si possono avere de' casi con moltissimi parassiti e con salute, apparentemente perfetta, degli animali.

Nella malaria bovina, che pure è così spesso caratterizzata da emoglobinuria, ho salassato buoi, nell'inizio della febbre, ho ricavato dal sangue il siero, e ne ho inoculato una volta 60, l'altra volta 90 cc. a vitelli sani, molto piccoli, ma non son riuscito a produrre che lievissima o nessuna elevazione febbrile.

Analoghe esperienze ho fatto anche nell'uomo. Già Gualdi e Montesano [4], e poi Mannaberg [5], aveano inoculate, senz'effetto, piccole quantità di siero di sangue di febbricitanti per malaria. Da mia parte, avendo

---

[1] Comunicazione al Congresso internazionale di medicina tenuto in Roma nel 1894. *Atti del Congresso.* Roma, 1854-95.

[2] *Sulla questione della malaria congenita.* Supplemento al *Policlinico.* 1898.

[3] *On Nagana or Tsetse Fly Disease. Proc. of the royal society.* Vol. 64.

[4] Comunicazione orale.

[5] *Die Malariakrankeiten.* Vienna, 1899.

nell' estate ed autunno decorso molti ammalati di febbri gravi negli ospedali, potei fare un piccolo salasso a parecchi di essi nell'inizio della febbre, e mettere così insieme quantità notevoli di siero di sangue malarico nel periodo del brivido. E così ne inoculai a piccoli bambini una volta 50 cc. sottocute, una volta 50 cc. nelle vene.

Nel dubbio che queste quantità di siero del sangue, nell'inizio della febbre, fossero poche, ne concentrai 260 cc. a bassa temperatura in un magnifico Vacuumapparat del Mürrle, sino ad averlo in piccolo volume, e così lo inoculai nelle vene e sottocute a un altro piccolo bambino. Nè tutti questi sieri, e neanche 25 cc. di siero di un piccolo salasso in un caso di perniciosa comatosa gravissimo diedero mai febbre. Ma solo, e non sempre, una lieve elevazione di temperatura che si ha pure inoculando una certa quantità di siero di persona sa a.

Dunque *tossina malarica pirogena non si è potuto finora dimostrare nel sangue dei febbricitanti.*

Potrebbe forse questa tossina essere annidata nei globuli del sangue. Or bene, ho centrifugato il sangue appena estratto dai febbricitanti per malaria; i globuli raccolti insieme nel fondo dei tubi della centrifuga li ho disseccati, polverizzati e disciolti in soluzione fisiologica di cloruro di sodio (gr. 1 di globuli secchi in 20 cc. di soluz. fisiol.), e dopo aver centrifugato, li ho inoculati. Ed anche stavolta non si è avuta che una lievissima elevazione di temperatura. Dunque nemmeno dentro i globuli si può finora dimostrare questa tossina malarica pirogena.

Esiste tuttavia un'antitossina, o in generale qualche principio immunizzante o curativo nel siero di sangue dei malarici durante la defervescenza febbrile?

In un grande ospedale come S. Spirito è molto facile, durante l'acme della stagione malarica, mettere insieme, con piccoli salassi individuali, notevoli quantità di questo siero, che adoperai poi a scopo immunizzante e curativo. Ecco i risultati delle esperienze fatte:

1. *A scopo immunizzante:*

Caso 1°. Iniezione di cc. 135 di detto siero in 3 volte; due volte 4-1 giorni prima dell' inoculazione di cc. 0.8 di sangue di terzana lieve, e la terza volta 6 giorni dopo. Con tutto ciò, dopo un periodo d' incubazione di soli 11 giorni è venuta la febbre terzanaria primaverile tipica.

2. *A scopo curativo:*

Caso 2°. Terzana doppia primaverile in un adulto.

S' iniettano sottocute 50 cc. di siero c. s.

Il primo accesso consecutivo venne ugualmente e si svolse regolarmente fino a 40°.8; il secondo accesso fu più breve e salì a 39°. La febbre diventò terzana semplice e dopo un giorno di apiressia venne una leggiera febbre a 38°.2, e poi più nulla. Intanto scompariscono i parassiti del sangue del dito.

Nel dubbio però si trattasse d'uno dei casi non infrequenti di guarigione spontanea di queste febbri lievi, ricorsi alle altre esperienze che seguono:

Caso 3°. Terzana doppia estivo-autunnale in un ragazzo di 12 anni.

Alla fine del quarto accesso di febbre iniezione endovenosa di cc. 75 di siero c. s.

La febbre si fece terzana semplice, caratteristica, estivo-autunnale; gli accessi andarono calando da 39°, a 38°.6, a 38°, e 37°.8. Si ebbe poi un periodo di forme semilunari, e poi di nuovo recidive di febbri c. s. ostinate anche ad onta dell'uso abbondante di chinino.

Siccome anche questo caso lasciava qualche dubbio, volli fare l'esperienza decisiva seguente:

Caso 4°. Terzana estivo-autunnale in un bambino di 6 anni.

272 cc. di siero di sangue, c. s. si concentrano nel Vacuumapparat fino a 53 cc. e s'inoculano subito dopo il primo accesso $^1/_4$ nelle vene, il resto sottocute. La febbre ha seguito invariabilmente il suo decorso pel secondo e terzo accesso; alla fine del terzo fu dovuta somministrare la chinina che fece subito sospendere l'infezione febbrile. Successivamente si svilupparono nel sangue abbondanti gameti (semilune), e le febbri poi recidivarono.

Quest'ultimo caso è tipico per dimostrare che sostanze curative non si rinvengono nel siero di sangue durante la defervescenza della febbre malarica. E tutti questi ultimi 4 casi dimostrano che *nè principî immunizzanti, nè principî curativi si possono per ora mettere in evidenza nel siero di sangue dei malarici, durante la defervescenza febbrile.*

B) Genesi della guarigione spontanea.

Se eventuali sostanze antitossiche esistono mai nel sangue malarico, esse devono essere nella massima quantità nei casi di guarigioni spontanee, specie della infezione più grave, come è la estivo-autunnale.

Ho fatto perciò 4 salassi a 4 guariti spontaneamente di questa infezione; ed ecco il risultato dell'inoculazione del relativo siero a scopo preventivo.

10, IX-7, X, 98. Iniezione sottocute di siero c. s.: se ne inoculano in tutto 150 cc.

7, X, 98. Inoculazione di 1 cc. di sangue terzanario primaverile.

20, X, 98. Febbre con reperto parassitario caratteristico.

Cosicchè dunque *nè la genesi della febbre, nè la sua defervescenza, nè la guarigione spontanea della infezione malarica si possono finora spiegare secondo i principî della sieroterapia.*

3. — Immunità artificiale.

Fallito il tentativo di raggiungere una immunità per opera di antitossine, si potea vedere se si fosse potuto conseguirla per mezzo di prodotti morbosi, o per mezzo di prodotti fisiologici, o infine per mezzo di sostanze medicamentose. A questi scopi furono dirette le esperienze seguenti:

A) Azioni reciproche preventive corrono eventualmente fra i prodotti morbosi delle varie specie di malaria, come fra vaccino e vaiuolo?

Ho perciò esperimentato il sangue di malaria bovina in atto.

11-13, X, 98. Iniezioni sottocute di 5, 6, 10 cc. di sangue defibrinato di una vacca malata di malaria bovina.

14-17, X, 98. Nulla di notevole: nè albumina, nè emoglobina nell'urina.

18, X, 98. Inoculazione sottocute di $^3/_{10}$ di cc. di sangue di malaria estivo-autunnale.

28, X, 98. Febbre. Reperto parassitario estivo-autunnale.

Dunque *coi prodotti morbosi della malaria bovina non si può immunizzare l' uomo dalla sua malaria.*

B) Nel sangue o nel succo degli organi d' animali immuni della loro malaria esistono principî fisiologici capaci di trasmettere un' immunità contro la malaria dell' uomo?

1. *Iniezioni preventive di siero di sangue di bovini immuni della loro malaria.*

Fin dal 1897, in un lavoro col dott. Santori [1], credetti come di buon augurio che col preventivo trattamento del siero d'animali naturalmente immuni della loro malaria (bufale e buoi indigeni di Campagna romana) si riusciva a prolungare insolitamente nell' uomo il periodo d'incubazione delle febbri malariche sperimentali.

Tentai quindi nell'anno passato le stesse iniezioni (10 cc. di siero per volta, di 8 in 8 giorni per 3 volte) a 60 persone provenienti da luoghi salubri, e condotti a colonia in luoghi d'aria cattiva (Conca, Campomorto,

---

[1] *Annali d' Igiene sperimentale,* vol. VII, 1897.

Carano, Campojemini, Le Castella). Circa altrettante persone rimanevano di controllo.

La stagione delle febbri in quelle località fu nell'anno passato molto grave. E nessun'efficacia preventiva ebbero a risentire le persone iniettate. Cosicchè mi persuasi (e le seguenti esperienze lo dimostrano sempre meglio) che eziandio il suddetto prolungamento del periodo d'incubazione della malaria sperimentale più che al siero dovesse la sua origine alla varia resistenza organica individuale.

2. *Opoterapia preventiva.*

La nuova orientazione degli studi sull'immunità dal siero del sangue verso i tessuti organici, nell'ipotesi che questi contengano o preparino sostanze immunizzanti, mi ha indotto a saggiare se negli organi dei bovini e bufalini della nostra campagna, che sono immuni della malaria della loro specie, ci fosse eventualmente qualche principio immunizzante.

Per questo scopo ho sperimentato i succhi di milza, midollo delle ossa, pancreas, ghiandole linfatiche e cervello.

La tecnica fu molto semplice.

Gli organi suddetti, appena aperto l'animale e trovato sano, si mettevano dentro un panno bagnato con soluzione di sublimato e dal mattatoio si portavano subito all'Istituto. Qui con tutte le regole asettiche si trituravano e pestavano insieme a sabbia del Tevere sterilizzata: il succo del midollo delle ossa si otteneva spremendo le vertebre lombari. Della mescolanza degli organi triturati e pestati con la sabbia si faceva una massa umida che si pressava nella pressa idraulica dei fratelli Buchner. Si eliminava ciò che ne usciva ad 1-200 atmosfere. Si raccoglieva quel che veniva fuori da 200 a 350 atmosfere, si centrifugava, e il liquido, mantenuto dentro provette sterilizzate e tenute in ghiaccio, si portava subito all'ospedale per inocularlo.

Le iniezioni preliminari di questi succhi negli animali (cavie, conigli, cani) dimostrarono indubbiamente che quando sono essi preparati nel modo asettico più scrupoloso non hanno alcuna azione tossica. È noto che Foà, Pellacani, Royer, ecc., han dimostrato che i succhi degli organi sani posseggono un certo grado di tossicità; ma io sono convinto che se gli stessi autori ripetessero oggi, con la tecnica così perfezionata, le mie esperienze, ne accetterebbero le conclusioni.

Fra i succhi suddetti v'è pure quello del pancreas, che se, come non par dubbio, contiene fermento pancreatico, confermerebbe quanto il Fermi [1] sostiene contro Kahane, cioè che i fermenti fisiologici non sono tossici.

---

[1] *Deutsche Med. Wochenschrift;* 1897.

Ma lasciando a parte queste discussioni collaterali, vediamo nelle esperienze che seguono se i succhi stessi abbiano qualche azione preventiva contro la malaria sperimentale.

Succo splenico.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
26 VII 98	1 cc.	—	—	—	—	—
30 » »	1,5 »	—	—	+	+	—
6 VIII »	2 »	—	—	+	—	—
9 » »	3 »	—	—	—	—	—
12 » »	—	1 cc.	—	—	—	—
13 » »	5 »	—	—	—	—	—
17 » »	7 »	—	—	—	—	—
20 » »	10 »	—	—	—	—	—
23 » »	—	—	—	—	—	+

Osservazioni: il sangue inoculato fu di terzana primaverile; la prima febbre, il 23, VIII, 98, ebbe un massimo termico di 38°, e perciò, quantunque il reperto parassitario fosse abbondante, non si fece alcuna cura specifica. Dal 24 al 29 VIII vennero lievi accessi terzanari con massimi termici di di 37°.8-38°. Il 30 la terzana divenne doppia e la temperatura salì a 39°.4. Inoculai allora altri 6 cc. di succo splecnico; e nei due giorni successivi si ebbero febbricole a 37°.7-37°.6, e poi più nulla. Dal sangue scomparirono affatto le farme parassitarie.

Si ebbe dunque in questo caso, dopo 10 giorni d'incubazione, una infezione malarica leggerissima che guarì dopo nuovamente iniettato lo stesso succo splenico.

Succo di midollo rosso delle ossa.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
26 VIII 98	1 cc.	—	—	—	—	—
30 » »	3 »	—	—	—	—	—
8 IX »	5 »	—	—	—	—	—
10 » »	7 »	—	—	—	—	—
14 » »	10 »	—	—	—	—	—
» » »	—	1 cc.	—	—	—	—
16 » »	8 »	—	—	—	—	—
19 » »	9 »	—	—	—	—	—
23 » »	—	—	—	—	—	+

Osservazioni: il sangue inoculato fu di terzana primaverile. La febbre venne ad accesso forte dopo 8 giorni d'incubazione L'esame del sangue ne confermò la natura.

Succo di ghiandole linfatiche.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
30 VII 98	1,5 cc.	—	—	—	—	—
3 VIII »	3 »	—	—	—	—	—
6 » »	3 »	—	—	—	—	—
9 » »	4 »	—	—	—	—	—
12 » »	—	1 cc.	—	—	—	—
13 » »	7 »	—	—	—	—	—
20 » »	7,5 »	—	—	—	—	—
22 » »	—	—	—	—	—	+

Osservazioni: il sangue inoculato fu di terzana primaverile. La febbre venne ad accesso regolare dopo 10 giorni d'incubazione.

Succo di ghiandola pancreatica.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
12 X 98	2 cc.	—	—	—	—	—
15 » »	4 »	—	—	—	—	—
17 » »	6 »	—	—	—	—	—
18 » »	—	0,2 cc.	—	—	—	—
19 » »	8 »	—	—	—	—	—
22 » »	10 »	—	—	—	—	—
24 » »	10 »	—	—	—	—	—
27 » »	10 »	—	—	—	—	—
29 » »	—	—	—	—	—	+

Osservazioni: il sangue inoculato fu di terzana estiva. Accesso regolare dopo 10 giorni d'incubazione.

Succo di cervello.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
14 IX 98	2 cc.	—	—	—	—	—
16 » »	4 »	—	—	—	—	—
19 » »	6 »	—	—	—	—	—
21 » »	—	1 cc.	—	—	—	—
22 » »	8 »	—	—	—	—	—
24 » »	10 »	—	—	—	—	—
26 » »	10 »	—	—	—	—	—
6 X »	—	—	—	—	—	+

Osservazioni: il sangue inoculato fu di terzana primaverile. Accesso di febbre regolare, dopo 14 giorni d'incubazione.

Succo di cervello.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
26 VII 98	1 cc.	—	—	—	—	—
31 » »	1,5 »	—	—	—	—	—
4 VIII »	3 »	—	—	—	—	—
6 » »	3 »	—	—	—	—	—
9 » »	4 »	—	—	—	—	—
12 » »	—	1 cc.	—	—	—	—
13 » »	5 »	—	—	—	—	—
17 » »	7 »	—	—	—	—	—
20 » »	10 »	—	—	—	—	—

Osservazioni: dopo un mese nessuna febbre, ad onta siansi fatte doccie fredde. Il sangue inoculato fu di terzana primaverile. Visto il risultato negativo, si ripete l'esperienza con sangue di terzana estiva.

DATA	QUANTITÀ INOCULATA DI		Albumina nell'urina	REAZIONE		Febbre malarica
	succo	sangue malarico		locale	generale	
19 IX 98	10 cc.	—	—	—	—	—
21 » »	—	1 cc.	—	—	—	—
26 » »	10 »	—	—	—	—	—
29 » »	10 »	—	—	—	—	—

Osservazioni: anche stavolta nessuna febbre ad onta si fosse inoculato sangue di terzana estiva; è notevole che per altre esperienze fu contemporaneamente inoculato lo stesso sangue a un altro ch'ebbe la febbre, con reperto caratteristico del sangue, dopo soli 3 giorni d'incubazione.

Che l'inoculazione del sangue di terzana primaverile possa fallire, per quanto sia raro, pure è possibile: ne ha pubblicato di recente un caso il dott. Elting di Baltimore [1], ma in questo caso medesimo l'inoculazione del sangue di terzana estiva ebbe un pronto effetto, mentre nel nostro l'immunità si mantenne. Nella letteratura medica è la prima volta che appare un fatto di questo genere; merita quindi che io lo riporti in tutti i suoi particolari:

F. A., d'anni 41, da Castiglione in Teverina, campagnuolo, figlio di genitori che non soffersero mai di malaria, e morirono di malattie intercorrenti, il padre di polmonite, la madre di vizio di cuore. A 15 anni cadde da un albero e rimase tramortito. A 20 anni fece il militare in fanteria per 30 mesi. Quindi si arruolò nel corpo delle guardie di finanza dove rimase per 5 anni. Fece poi ritorno in famiglia e venne a Roma in cerca di lavoro. Egli e i suoi parenti assicurano nel modo più reciso che non ha sofferto mai di malaria, ad onta sia stato, come guardia di finanza, anche in Sardegna.

È individuo assai robusto, muscoloso e ben nutrito.

Non potendosi attribuire questa singolare immunità alle inoculazioni di succo cerebrale, che in altro caso abbiamo visto del tutto inefficace, non rimane che ammettere come ci siano *individui immuni dalla malaria non solo naturale ma eziandio sperimentale.*

E in conclusione delle precedenti esperienze possiamo dire che *nè il siero del sangue, nè i succhi dei principali organi di animali immuni della loro malaria contengono principî immunizzanti della malaria umana.*

Possono eventualmente contenere principî curativi della stessa infezione malarica?

I risultati preventivi, in parte o in apparenza favorevoli, ottenuti coll'inoculazione dei succhi di milza o di cervello mi indussero a provare il primo di questi succhi a scopo curativo in una quartana, in due terzane doppie primaverili, in una terzana doppia estiva, in una succontinua, e il succo di cervello in una terzana estiva.

Ogni volta s'inocularono 10-16 cc. dei rispettivi succhi. Nelle febbri gravi l'esito fu del tutto negativo; nelle febbri miti il succo di milza non arrestò la quartana, agì favorevolmente contro le due terzane primaverili; è noto però come queste possono con facilità guarire spontaneamente.

C) Si può ottenere immunità alla malaria per mezzo di sostanze medicamentose?

Ho scelto quelle che o si prendevano a lungo abitualmente (ioduro e bromuro di potassio, ac. fenico, antipirina) o che si erano già adoperate contro la malaria (arsenico, fenocolla, turchino di metilene) o che pote-

---

[1] *Zeitschrift für Klin. Medicin.* Vol. 36, 1899.

vano essere una miglior forma di somministrare il rimedio specifico (chininsiero, euchinina).

1. *Ioduro di potassio:* abitualmente e regolarmente 2 gr. al giorno da due mesi.

24, XII, 98. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue quartanario.
1, II, 99. Ad onta siasi continuato l'uso del rimedio, febbre con reperto caratteristico dopo 39 giorni d'incubazione.

2. *Bromuro di potassio:* da 6 anni 4 gr. al giorno.

24, XII, 98. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue quartanario. Si continua nei giorni successivi la somministrazione del rimedio.
27, I, 99. Febbre con reperto caratteristico dopo 34 giorni d'incubazione.

Id., id., id.: da più mesi 4 gr. al giorno.

21, II, 99. Inocul. sottoc. di 0.6 cc. di sangue terzanario primav. Si continua nei giorni successivi la somministrazione del rimedio. Niente febbre.

3. *Acido fenico:* 2 cgr. al giorno per inoculaz. sottoc. da un mese e mezzo.

21, II, 99. Inoculazione di 0.6 cc. di sangue terzanario primav.
12, III, 99. Temp. 37°.7. Esame del sangue negativo.
13, III, 99. Temp. 37°.4. Esame del sangue negativo.
17-25, III, 99. Si sospende l'iniezione sottocutanea. Niente febbre.

4. *Antipirina:* da più mesi 0.5 gr. al giorno.

21, II, 99. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue terzanario primav.
8, III, 99. Febbre con reperto caratteristico. Periodo d'incubazione 14 giorni.

5. *Arcido arsenioso:* da 23 giorni 2 pillole asiatiche al giorno.

24, XII, 99. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue quartanario. Si continua la somministrazione di arsenico. Risultato negativo.

Id., id., id.: da 20 giorni 2 pillole asiatiche al giorno.

21, II, 99. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue terzanario primav.
16, III, 99. Febbre con reperto caratteristico. Si sospende l'arsenico. Periodo d'incubazione 22 giorni.

6. *Fenocolla:* da 14 giorni 2 gr. al giorno.

24, XII, 98. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue quartanario.
28, II, 99. Febbre con reperto caratteristico. Periodo d'incubazione 66 giorni: la fenocolla s'era somministrata sin' oggi.

Id.: da 6 giorni 2 gr. al giorno.

21, II, 99. Inoculaz. sottoc. di 0.6 cc. di sangue terzanario primav.
20, III, 99. Si sospende la fenocolla. Niente febbre.

7. *Turchino di metilene medicinale:* da 20 giorni un gr. al giorno.

12, VII, 99. Inoculaz. sottoc. di 1 cc. di sangue terzanario estivo. Continua a prendere c. s. mezzo gr. al giorno, fino al 29 VII.
31, VIII, 99. Finora niente febbre.

Id., id., id.: da 14 giorni mezzo gr. al giorno.

14, VIII, 99. Inoculaz. sottoc. di 2 cc. di sangue terzanario estivo. Continua a prendere mezzo gr. al giorno c. s. sino al 26 VIII.
31, VIII, 99. Finora niente febbre.

8. *Chininsiero.*

Se la chinina sia o no un rimedio profilattico si discute ancora; ma egli è certo che in pratica nelle piccole dosi è insufficiente, nelle dosi grandi è troppo molesta. La sua azione curativa specifica è però così indiscutibile, come è ancora oscuro il meccanismo col quale si estrinseca. Una delle ipotesi è che possa agire eccitando i tessuti a produrre qualche antiveleno. Partendo da questa ipotesi ho preparato il siero di un cavallo previamente trattato con dosi successivamente progressive di bicloruro di chinina, per la via endovenosa, da 7 a 20 gr. al giorno. L'animale, dopo le dosi più elevate, soffriva vertigini e tremori muscolari, che scomparivano in pochi minuti, ma che, col crescere delle dosi, non andavano cessando.

Tre giorni dopo così lungo trattamento, nel quale s'erano impiegati 247 gr. di chinino, fu estratto il siero, ed usato a scopo preventivo e curativo.

Nel 1° caso:

28, IX-3, X, 98. Iniez. sottoc. gradualmente di 270 cc. di siero c. s.
3, X, 98. Inoculaz. di 0.7 cc. di sangue terzan. primav.
15, X, 98. Febbre con reperto caratteristico.

Nel 2° caso ne iniettai 56-60 cc. rispettivamente in una terzana primaverile e in una quartana, con risultato però ugualmente negativo.

9. *Euchinina.*

Questa ha, com'è noto, ogni pregio, senza alcuni dei difetti del chinino.

Se ne dà 1 gr. al giorno per 14 giorni.

24, XII, 98. Inoculaz. di cc. 0.6 di sangue quartanario.
5, II, 99. Sin' oggi s'è continuata la somministrazione di 1 gr. al giorno come sopra. Niente febbre.

Id.: 1 gr. al giorno per 20 giorni.

21, II, 99. Inoculaz. di 0.6 cc. di sangue terz. primav.
15, III, 99. Si sospende l' Euchinina. Niente febbre.

Da queste ultime esperienze risulta che *lo ioduro di potassio e l' antipirina hanno avuto risultato profilattico una volta negativo; il bromuro di potassio, l' arsenico, la fenocolla una volta positivo e una volta negativo; l' acido fenico una volta risultato dubbio. L' euchinina invece ha potuto prevenire la quartana e la terzana primaverile, il turchino di metilene per due volte anche la terzana estiva.*

Sicchè di tutte le predette sostanze medicamentose l' euchinina e il turchino di metilene medicinale spiegano la migliore azione profilattica contro la malaria sperimentale.

Che altrettanto si possa dire per l' infezione naturale è probabile, e, in ogni modo, val certo la pena di provarlo in grande come mi propongo di fare.

4. — **Conclusioni.**

Alcuni individui sono naturalmente immuni dall' infezione malarica, anche laddove questa infierisce di più; altri sono immuni pure dall' infezione stessa sperimentale; e v' hanno eziandio degli immuni per un' immunità acquisita dopo aver sofferta questa malattia.

Il meccanismo di siffatte immunità non si spiega sinora coi principi della sieroterapia, non essendosi finoggi potuto dimostrare nè tossina nè antitossina in questa infezione.

Un' immunità artificiale contro la malaria sperimentale non si ottiene nè coi prodotti morbosi della malaria d' altri animali, nè col siero di sangue o coi succhi di organi di animali immuni dalla loro malaria; si può invece ottenere con dosi elevate e protratte di euchinina oppure di turchino di metilene medicinale.

Sono già in corso delle ricerche per indagare se allo scopo di raggiungere un' immunità artificiale si possano utilizzare i succhi di zanzare malariche e non malariche.

Intanto compio il gradito dovere di mandare un memore saluto alla venerata memoria del prof. Enrico Bondi, e ringraziare il prof. Santori e i dottori Carducci, Panichi, Panegrossi, Del Pino, Nazari e Pecori, i quali tutti mi hanno validamente aiutato in questo lavoro.

Roma, settembre 1899.

PER LA DISTRUZIONE DELLE ZANZARE

CONTRIBUTO ALLO STUDIO DELLE SOSTANZE ZANZARICIDE

MEMORIA PRIMA

DI

A. CELLI e O. CASAGRANDI

I.

Introduzione.

Universalmente e anticamente note sono le molestie che arrecano le zanzare all'uomo. Ed ora, dopo gli ultimi studi, dai quali è provato che degli insetti di questa famiglia di Culicidi sono l'ospite definitivo dei parassiti della malaria, colle molestie loro debbono essere sommati i danni enormi ch' essi fanno con le loro punture.

S' impone quindi, come una necessità sociale, la distruzione di animali che sono per noi così dannosi, e nient'altro che dannosi.

L'esperienza popolare, insigne maestra di chiunque la sappia ascoltare, avea già fatto in questo senso qualche tentativo, che avremo occasione di accennare in seguito. Ma oggi diventa più che mai necessario un apposito studio sperimentale, che, riuscendo, potrebbe avere un' importanza analoga a quella che hanno avuta per le malattie batteriche le disinfezioni e le sostanze disinfettanti.

Occorre però, anzitutto, fissar bene alcune principali condizioni biologiche nelle quali possono essere le zanzare da distruggere; e più propriamente il genere e la specie alla quale esse appartengono, l'età, il tempo di cattività, alcuni stati patologici, lo stadio di sviluppo.

Genere e specie: non sapendosi ancora esattamente se ai mezzi di distruzione, come agli agenti naturali, oppongano quelle dei vari generi e delle varie specie una identica resistenza, viene la necessità di indicar bene, a scanso di equivoci, col loro nome zoologico, le zanzare sulle quali si esperimenta.

Età: v' influisce così nello stadio larvale come in quello di insetto alato. Per esempio, vedremo che il minimo di resistenza, a parità di altre condizioni, oppongono così le larve appena nate dalle uova, come le zanzare da poco uscite dalla muta, e il massimo le larve che stanno per diventar ninfe e gli insetti presi nell'aria in vita libera.

Tempo di cattività: è raro che l'ambiente del Laboratorio sia così favorevole alla vita loro come quello naturale; perciò, sia le larve come le zanzare perfette, hanno sempre, appena prese, una maggior resistenza alle sostanze culicide; e quindi tutte le nostre osservazioni si riferiscono a un materiale appena venuto dalla campagna.

Stati patologici: talvolta appena prese, più spesso dopo che sono in Laboratorio, le larve possono presentare, in numero maggiore o minore, un imbianchimento come cereo del loro corpo, nel quale stato resistono di meno agli agenti distruttori.

E, più che tutto, è necessario tenere il più esatto conto dello

Stadio di sviluppo: se cioè sono uova, larve, ninfe o zanzare perfette (sin. immagini, insetti volatili, o alati, o aerei); in quest' ultimo stadio vivono nell'aria, negli altri stadi vivono nell' acqua; da ciò la necessità di variare le sostanze zanzaricide secondo l'ambiente dove vivono, ed anche quando sono nell'acqua varia moltissimo la resistenza delle larve da quella delle ninfe, essendo in generale queste ultime più resistenti delle prime.

Sicchè la classificazione delle sostanze zanzaricide deve esser fatta prendendo a fondamento lo stadio di sviluppo in cui sono questi insetti che si voglion distruggere; avremo quindi:

1. Sostanze che uccidono le uova;
2. Sostanze che uccidono le larve;
3. Sostanze che uccidono le larve e le ninfe;
4. Sostanze che uccidono le zanzare perfette.

II.

Sostanze che uccidono le uova di zanzara.

Abbiamo sperimentato sulle uova di *C. pipiens,* le più facili ad avere in quantità, ed abbiamo trovato che per ucciderle non sempre bastano quelle sostanze e in quelle proporzioni più alte che occorrono, come vedremo, per uccidere le larve adulte.

Però le larve giovanissime, meglio se appena nate, resistono pochissimo, come vedremo nel paragrafo apposito, all' azione delle sostanze

medesime, anche molto diluite. Il che, dal punto di vista pratico, è importante, perchè ci assicura che eziandio con sostanze molto allungate, e quindi poco costose, quand' anche le uova non vi muoiano, muoiono però le larve appena uscite dall'uovo; il che, praticamente, per la distruzione d'una specie è lo stesso.

III.

Sostanze che uccidono le larve di zanzara.

I tentativi fatti per questo scopo dall'*esperienza popolare* in America si riducono all'uso, antico di circa 50 anni, ma non mai universalmente diffuso, d'una sostanza ivi comunissima, il petrolio, e a quello più recente del permanganato di potassio.

La *storia delle ricerche già fatte* per l'istesso fine è molto breve, perchè si limita, per quanto noi sappiamo, ai lavori americani.

In America sono le zanzare una vera piaga in molte località, e di liberarnele hanno perciò tentato parecchi entomologisti. Molto se ne sono occupati, nel 1890, Roberto H. Lamborn[1] e sotto la sua direzione Aaron, Week, Beutenmüller, Macaulay, Mc. Cook, e più tardi[2] Howard (1893), e (1892-96) lo stesso Herbert Osborn,[3] capo della divisione di entomologia nel ministero di agricoltura.

I risultati però non furono, in verità, molto confortanti, e si riferiscono quasi esclusivamente all'uso del petrolio.

E così Aaron dice d'esser riuscito a trovare nel 1890 che una goccia di petrolio (!), fatta cadere sopra una pozzanghera di 10 piedi quadrati (m. q. 3.04), uccideva in 15 minuti (!) tutte le larve e ninfe di zanzare che v'erano, mentre i crostacei e le larve di Odonati, o Libellule, rimanevano in vita.

Howard riferisce d'essere riuscito, nel 1893, a uccidere col petrolio tutti gl'insetti in uno stagno di 60 piedi quadrati (m. q. 18.29) di superficie; e nell'anno successivo, avendo il 4 giugno, nelle vicinanze di Washington, ricoperto uno stagno di 100 piedi quadrati (m. 121.92) di superficie con uno strato di petrolio (5 galloni = litri 68.14), nel giugno e nel luglio non vide svilupparsi affatto le zanzare, che ordinariamente

---

[1] *Dragon Flies vs. Mosquitoes.* Can the Mosquito Pest be mitigated? New York, 1890.

[2] *Die Mosquito-Malaria-Theorie* von G. H. F. Nuttal. Centralb f. Bakteriol., vol. XXV, 1899.

[3] U. S. *Dep. of Agricolture. Division of Entomology.* Bull. N. 5, New Series, 1896.

infestavano quel luogo. Tanto che, egli ritiene, con un po' di petrolio si potrebbero liberare molte località dalle zanzare.

Anche Osborn ritiene che « probabilmente il migliore e il più facile di tutti i rimedi contro le zanzare è l'uso del petrolio alla superficie degli stagni ». E soggiunge che quest'uso gli era noto; ma avendo fatti, nel 1892, esperimenti su larga scala, avea trovato che un'oncia (gr. 31) di petrolio per ogni 15 piedi quadrati (m. q. 4.51) di superficie d'un piccolo stagno basta a questo scopo per un mese, ma talvolta occorre sia rinnovato più spesso ».

Dal 1892 in poi, avendo ripetuti gli esperimenti, assicura essere riuscito col solo petrolio a liberare due località dalle zanzare; tanto che nel 1896 proponeva di esperimentarlo anche su grandi stagni, essendone il costo (per loro americani) insignificante, e potendolo sparger sopra, con una larga scopa contro vento, dagli argini o da una barca.

Quale sia stato l'esito di questi esperimenti non sappiamo; non se ne parla neppure nella citata rivista, molto minuziosa e accurata del Nuttal, apparsa in questi giorni. [1]

Per conto nostro, dopo molte prove, ci siamo persuasi che, a parte anche la questione della spesa, fuori di America veramente notevole, l'azione del petrolio nel distruggere le larve di zanzare non è certo da mettere sempre in prima riga, nè sempre è tale che in parecchi casi anche l'uso di altre sostanze non sia pure consigliabile.

Finora pochissime di tali sostanze si erano a questo scopo adoperate; per quanto è noto a noi, il Whitfield, nell'*Atlantic City* di New York, aggiunse all'acqua contenente larve di zanzare il vetriolo di ferro.

Ricerche precise, eseguite col permanganato potassico, una delle sostanze le più vantate per la distruzione delle zanzare, non le conosciamo. [2]

Fra le ricerche indirette, cioè rivolte a distruggere i germi della malaria in una località per mezzo d'una bonifica stabile, citiamo che Lanzi e Terrigi nel 1873 applicarono estesamente un trattamento di

---

[1] Loc. cit

[2] A titolo di curiosità riportiamo che in un giornale medico, fra le *Varietà*, abbiamo letto questa mirabolante notizia *sulla distruzione delle zanzare:* « Le larve impiegano due ore e mezzo (*sic!*) per trasformarsi dal loro primo stadio vitale (?) in insetto. In ogni sua fase può essere ucciso (l'insetto?) dal contatto di piccole quantità di permanganato potassico. Una soluzione di esso all'1 p. 1500 rende impossibile lo sviluppo delle larve: così una manata di permanganato potassico potrà ossidare l'acqua in una palude di 5 ettari (!), uccidendone gl'insetti in embrione ». Vedremo che ci vuol ben altro!

calce caustica spenta nell'acqua agli sterri del Colosseo, e fu allora osservato che tra gli operai addetti a quegli scavi non si sviluppò mai alcun caso di febbre. Analogo esperimento e con identico risultato avrebbe poi fatto anche il Salisbury. [1]

Noi però abbiam voluto fare uno studio, il più completo possibile, di tutte quelle sostanze chimiche, le quali col loro costo più o meno basso potrebbero avere in grande una pratica applicazione alla distruzione delle zanzare nelle acque.

Come *criterio per giudicare dell'azione larvicida d'una data sostanza* abbiamo preso il tempo nel quale essa uccide le larve, considerando come inefficace quella che non le uccide almeno nel termine di giorni 3 (72 ore).

E perciò, secondo questo criterio, tutte le sostanze da noi finora saggiate possono essere divise in due grandi categorie:

A) *Sostanze che non uccidono le larve di zanzare.*

Fra queste, che sommano per ora a 198 (V. allegato *A* e *B*), troviamo, oltre a 167 sostanze coloranti, eziandio:

Permanganato di potassio in soluzione $\frac{N}{100}$ e 1 $^0/_{00}$;

Ac. arsenioso in soluzione ammoniacale 10 $^0/_0$;

Vari saponi (eccetto uno all'estratto di tabacco);

Lo stesso petrolio (così vantato dagli americani) anche nella proporzione di 0.05 per 100 cmq. di superficie alla temperatura di 18°;

Ammoniaca (1 $^0/_0$ a 18°); ac. tannico (1 $^0/_{00}$); borace (1 $^0/_{00}$);

Acqua gassosa (per CO^2), acque solfuree (per H^2S).

Analogamente abbiamo osservato che larve e ninfe di zanzare vivono benissimo nelle *acque albule* di Tivoli e in acque solfuree dello stesso tipo.

B) *Sostanze che uccidono le larve di zanzare.*

Riportiamo qui senz' altro l' elenco di queste sostanze suddividendole in due tabelle; nella prima delle quali (v. Tabella I) enumeriamo varie sostanze chimiche e alcuni infusi di vegetali; nella seconda (v. Tabella II) poniamo le più efficaci fra le sostanze coloranti derivanti dal catrame; nella terza (v. Tabella III) analizziamo l'azione delle più attive fra queste ultime :

---

[1] Cit. da Tommasi-Crudeli, *Sulla produzione naturale della malaria.* Memoria 2ª. Accademia dei Lincei, 1880.

Tabella I.

Azione di sostanze culicide sulle larve di zanzare
(C. pipiens — C. annulatus)
a temperatura ordinaria (18°-20°).

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	Massima durata in vita delle larve
1	Foglie di tabacco — infuso acquoso saturo di .	3h
2	Potassa $^{N}/_{10}$	4h
3	Polvere di crisantemi (fiori chiusi) (0,003 $^{0}/_{00}$). .	7h
4	Sublimato corrosivo 1 $^{0}/_{00}$	10h
5	Polvere di crisantemi (2a qualità) 0,06 $^{0}/_{00}$ . . .	12h
6	Acqua solforosa non satura	12h
7	Acqua salata (5-10 $^{0}/_{0}$ Na Cl)	15h
8	Estratto di tabacco del commercio al 10 $^{0}/_{0}$ . .	20h
9	Bisolfiti di soda e di potassa 1 $^{0}/_{0}$	20h
10	Polvere di crisantemi (2a qualità) 0,010 $^{0}/_{00}$ . .	24h
11	Solfato di rame 1 $^{0}/_{0}$	24h
12	Solfato di ferro 1 $^{0}/_{0}$	24h
13	Catrame 10 $^{0}/_{0}$	30h
14	Acqua ammoniacale del gaz	45h
15	Latte di calce 5 $^{0}/_{0}$	48h
16	Acido solforico 1 $^{0}/_{00}$	48h
17	Bicromato potassico 2 + $H^2 SO^4$ 3 all' 1 $^{0}/_{00}$ . .	48h
18	Quassia amara — infuso acquoso saturo . .	72h
19	Solanum nigrum — » » » . .	72h
20	Daphne gnidium — » » » . .	72h
21	Solfuro sodico (soluz. acq. satura)	72h
22	Permanganato potassico 5 $^{0}/_{00}$	72h

Tabella II.

Azione di colori di anilina sulle larve di zanzare.
(C. pipiens — C. annulatus).

Numero	COLORI ADOPERATI (0.50 ‰)	Durata massima in vita delle larve
1	Gallol	12h
2	Verde malachite A	12h
3	A. Ersatz II	24h
4	Giallo martius (sale sodico)	24h
5	Violetto di metile	24h
6	Etilvioletto	24h
7	Azovioletto	24h
8	Crisoidina crist.	24h
9	Cianina	24h
10	Verde malachite B	48h
11	Giallo martius.	48h
12	Rhodanina B.	48h
13	Bleu di victoria	48h
14	Dalia	48h
15	Violetto di genziana	48h
16	Violetto neutro puro	48h
17	Nachtblau	48h
18	Brune pure	48h
19	Bleu di Basilea BB	48h
20	Bleu di Toluidina	48h
21	Aurina	48h
22	Curcumeina extra FF.	48h
23	Fosfina extra	48h

Tabella III.

Azione culicida sulle larve di zanzare (gen. Culex) **di colori d' anilina in diverse proporzioni.**

Numero	COLORE	Proporzione per mille	Durata in vita delle larve
1	Gallol	0.50	6h — 12h
		0.025	16h — 24h
		0.0125	24h — 36h
		0.0062	30h — 72h
		0.0031	36h — 96h
		0.0015	48h — 108h
		0.0007	72h — sopravvivono
2	Verde malachite A	0.50	6h — 12h
		0.025	24h — 26h
		0.0125	34h — 48h
		0.0062	36h — 108h
		0.0031	48h — sopravvivono
		0.0015	sopravvivono — id.
		0.0007	id. — id.

Una volta per sempre avvertiamo che i risultati sinteticamente e sommariamente esposti nelle Tabelle rappresentano la media di esperienze, ripetute sempre più volte e con un numero sempre grande di culicidi. Dalle 3 Tabelle che precedono risulta:

1. Fra le sostanze minerali il permanganato potassico già nella discreta dose del 5 $^0/_{00}$ è, fra le sostanze larvicide, una delle più lente ad agire; calce, solfato di Fe e di Cu, NH^3 agiscono, anche in proporzioni molto alte, abbastanza lentamente; l'acqua solforosa, anche non satura di SO^2 è fra le più attive sostanze larvicide; il sublimato corrosivo, nell'alta dose dell'1 $^0/_{00}$. uccide già con lentezza le larve e non le ninfe.

2. Tra le sostanze vegetali, veleni assai potenti delle larve sono quelli di foglie di tabacco forte, e di alcune polveri insetticide del commercio, le quali è noto che si ricavano dai fiori chiusi di crisantemi. Altre polveri insetticide del commercio si mostrorono meno attive o del tutto inefficaci. Viene poi l'estratto di tabacco del commercio, e in ultimo l'infuso acquoso saturo di quassia amara, di solanum nigrum, di daphne gnidium. Vedremo che le polveri suddette in proporzioni più alte uccidono anche le ninfe.

3. Dei colori di anilina (turchini, violetti, rossi, gialli e verdi) che abbiamo sperimentato, i due che spiegano la più energica azione sono: il Gallol della casa Weiler-ter-Meer di Uerdingen, e il Verde malachite della Actiengesellschaft für Anilin-Fabrikation di Berlino. Di questi ultimi due colori quello più attivo è il Gallol. Per questo la dose certamente larvicida è di 0.0062 $^0/_{00}$, pel secondo invece è di 0.0125; la minima dose larvicida pel primo può scendere a 0.0007, mentre pel secondo non va mai più in là di 0.0031.

IV.

Sostanze che uccidono larve e ninfe di zanzare.

Abbiamo già veduto come alcune sostanze, anche capaci di uccidere prontamente le larve, non hanno azione alcuna sulle ninfe, le quali vi possono completare il loro sviluppo e trasformarsi in insetto aereo.

Vediamo ora quali sono le sostanze che possono uccidere e le larve, e le ninfe di zanzare, e che nella seguente Tabella IV vengono in ordine, secondo il tempo che impiegano per uccidere le larve.

(Segue Tabella IV).

Tabella IV.

Azione di sostanze culicide sulle larve e ninfe delle zanzare
(C. pipiens - C. annulatus)
a temperatura ordinaria (18° - 20°)

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	Massima durata in vita	
		larve	ninfe
1	Acqua solforosa satura (SO^2)	10′ - 50′	25′
2	Permanganato potassico 0.3 + HCl 5 ‰ . . .	15′	1h
3	Acqua salata (soluz. acquosa satura NaCl) . . .	30′	1h
4	Polvere di crisantemi (fiori chiusi) 0.50 ‰ . . .	1h 15′	1h 35′
5	» » (2a qualità) » » . . .	2h 30′	3h
6	Petrolio cc. 0.20 su 100 c.m.q di superficie . . .	4h	4h
7	Permanganato potassico 2 %.	4h	8h
8	Ammoniaca 2 %	5h	6h
9	Olio (straterello che ricopre tutta la superficie del liquido)	6h	4h
10	Petrolio cc. 0.10 per 100 c. m. q. di superficie .	6h	6h
11	Permanganato potassico 1.5 %	6h	18h
12	Polvere di crisantemi (fiori chiusi) 0.006 ‰ . .	7h	9h
13	Formalina (formaldeide 40 %)	8h	12h
14	Carburo di calcio 10 ‰	8h	8h
15	Polvere di crisantemi (2a qualità) 0.06 ‰ . . .	11h	12h
16	Lisolo 0.5-01 %	12h	24h
17	Latte di calce 10 %	24h	36h
18	Cloruro di calcio del commercio 1 %	24h	48h
19	» » » » » 1 ‰	36h	60h
20	Bicromato potassico 1 ‰	48h	60h
21	Permanganato potassico 1 %	48h	72h

Dalla Tabella 4 risulta evidente che:

1. La distruzione delle ninfe è in generale un cómpito piuttosto difficile, essendo questo lo stadio di sviluppo, nel quale le zanzare oppongono la massima resistenza agli agenti distruttori. Difatti, generalmente, muoiono le ninfe in un tempo più lungo che le larve, eccetto che nelle sostanze oleose, le quali stando a galla dove le ninfe per lo più vanno a respirare, uccidono le ninfe prima o nell' istesso tempo che le larve;

2. Classificando le sostanze adoperate, seco do il tempo che impiegano per uccidere le larve, troviamo in prima riga l' acqua solforosa satura per SO^2, e poi il permanganato potassico mescolato all' HCl. Il permanganato solo agisce molto più debolmente, sebbene in proporzioni più alte (2 %-1 %). Molto efficaci sono le sostanze oleose leggiere, fra le quali il petrolio, che però deve agire a temperatura ordinaria, nella proporzione almeno di cc. 0.10 per 100 cmq. di superficie: un' azione perfettamente analoga esercita l' olio comune.

L' acqua salata, che già al 5-10 % (v. Tabella I) uccide le larve in 15^h, in soluzione concentrata satura uccide larve in 30′ e ninfe in 1^h.

Molto attive sono anche le suddette polveri insetticide del commercio ricavate dai fiori di crisantemi: esse agiscono per un loro principio che è solubile in acqua ed è un vero veleno larvicida e ninficida.

La calce caustica, come anche l' ammoniaca, devono essere, per agire, in proporzioni sempre molte alte, e così analogamente il cloruro e carburo di calce.

3. Dei più potenti disinfettanti dei bacteri, la formalina e il lisolo stanno, fra le sostanze culicide, in seconda linea, ed è anche meno di esse efficace, come abbiamo già visto (v. Tabella I), il sublimato corrosivo.

4. Essendo lo stadio di ninfa assai transitorio, in pratica, nella distruzione delle zanzare si può non tenerne conto.

A) *Condizioni che modificano l' attività delle sostanze che uccidono larve o ninfe di zanzare.*

Naturalmente queste condizioni sono molteplici; e noi ne accenneremo le principali; cioè frequenza o no di sostanze coadiuvanti, cosidette mordenti, luce solare diretta, proprietà fisiche e chimiche delle acque, stato delle acque, cioè modo come sono raccolte, età delle larve.

1. *Mordenti.*

La Tabella IV ci ha già dimostrato come il permanganato potassico, mentre ha da solo un' azione larvicida piuttosto debole, la rinforza invece di molto se è unito all' acido idroclorico.

Ma l' aggiunta o no di questi mordenti avrebbe potuto acquistare importanza speciale in presenza dei colori di anilina che abbiamo già veduto essere capaci d' uccidere uova o larve di zanzare. Perciò abbiam voluto studiare a fondo quest' argomento pei due suddetti colori più attivi. E da moltissime esperienze abbiamo potuto indubbiamente concludere che:

a) Il solfato di ferro, la calce, il cloruro di sodio, il bisolfato di potassio, l' acido cromico, l' acido solforico, aggiunti in proporzione uguale o doppia del Gallol, ne abbreviano un poco l' azione nel senso che in una soluzione di Gallol 0.50 e di mordente 0.50-1 $^0/_{00}$, le larve muoiono nel minimo del tempo che impiega il Gallol solo, cioè in 6 ore. Il cloruro di calce, l' ammoniaca, l' allume ferrico, il borace, la miscela di bicromato potassico e acido solforico (1:3) non aumentano l' azione zanzaricida del Gallol, come nè questi, nè gli altri mordenti sopradetti, nelle proporzioni indicate, l'aumentano pel Verde malachite;

b) Così variando contemporaneamente la quantità, per mille, di colore e di mordente (scegliendo per campione il solfato di ferro), come variando o solo la quantità di colore, o solo la quantità del mordente, questo non spiega un' azione notevolmente e decisamente ausiliare. Forse può il mordente riuscire di qualche utilità con le soluzioni larvicide minime, nel senso di renderle più certamente letali entro le 72 ore. Ma con risultati così scarsi non val la pena nè la spesa di aggiungere mordenti. Vuol dire che dove ce n' è, p. es., negli stagni o laghi di acque salmastre, sarà tanto meglio.

2. *Luce solare diretta.*

Questa non danneggia per un certo tempo l' efficacia dei colori; anzi nelle soluzioni coloranti deboli in acque paludose, ritardando la putrefazione fa sì che l'azione larvicida duri più lungo tempo. Con le polveri insetticide la luce solare diretta non scema l' efficacia larvicida, ma ne ritarda notevolmente la putrefazione.

Non disturba neppure l'azione del petrolio, la quale però viene disturbata, come vedremo, dalla temperatura, e perciò eziandio dal sole d' estate.

3. *Proprietà fisiche e chimiche delle acque ove vivono larve o ninfe di zanzare.*

Si comprende subito come debbano avere un' importanza di primo ordine.

Fra le *proprietà fisiche* notiamo subito:

a) Temperatura.

TABELLA V.

Azione di sostanze culicide sulle larve e ninfe delle zanzare (gen. Culex) **a diverse temperature** (18°-20° e 30°-35°).

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	MASSIMA durata in vita delle larve		MASSIMA durata in vita delle ninfe	
		a 18°-20°	a 30°-35°	a 18°-20°	a 30°-35°
1	Petrolio cc. 0.20 per 100 mq. .	4h	3h	4h	3h
2	» cc. 0.10 » 100 » .	6h	5h 30	6h	5h
3	Acqua solforosa satura . . .	20′	15′	25′	20′
4	Ammoniaca 2 %	5h	30′	2h	1h
5	Lisolo 0.50 %	12h	40′	24h	40′
6	Latte di Calce 5 %.	48h	2h	sopraviv.	2h
7	Infuso acquoso saturo di legno quassio.	72h	17h	»	24h
8	Gallol 0.0125 ‰	24h	12h	»	sopraviv.

Dalle precedenti cifre risulta chiara l' influenza della temperatura sul potere di varie delle sostanze più efficaci ad uccidere larve e ninfe di zanzare. Col salire della temperatura, anche nei limiti possibili nella nostra calda estate, si abbrevia il tempo di distruzione sia delle larve come delle ninfe; eccetto che col petrolio, che agisce dunque non chimicamente, ma solo meccanicamente, sottraendo cioè l'aria atmosferica per mezzo del suo strato impermeabile.

b) Intorbidamento per sospensione di particelle di terreno.

Per quanto a ciò si riferisce, rimandiamo al seguente paragrafo, dove tratteremo dell' influenza del terreno su di alcune delle sostanze larvicide.

Che poi le *proprietà chimiche* delle acque ove le zanzare passano lungo tempo della loro vita influiscano molto sul modo e sul tempo della loro eventuale distruzione si comprende subito.

Ad esempio il permanganato potassico dovendo ossidare le sostanze organiche, sarà più agevolmente distrutto nelle acque paludose, come anche nelle acque solfuree. Il petrolio stesso, evaporando ed ossidandosi, non potrà molto a lungo restare inalterato alla superficie delle acque. La

stessa calce e gli alcali in generale si dovranno combinare col CO^2 che dalle decomposizioni organiche del terreno e delle acque si sviluppa attivamente.

Anche fra i colori di anilina ve ne hanno di quelli poco stabili; diventava quindi, per lo scopo pratico di queste ricerche, necessario indagare come si comportassero nelle acque paludose eventualmente putride, e nelle acque solfuree, che sono, come abbiam detto, da noi così spesso il nido di zanzare. Il sale delle acque salate degli stagni marini lungo il nostro littorale malarico sapevamo già che può agire da mordente.

c) Acque paludose:

Ci siamo con ripetute esperienze persuasi che tanto il Gallol quanto il Verde malachite, indifferentemente con o senza mordente agiscono bene anche nelle acque paludose; p. es., nella proporzione del 0.025 $^0/_{00}$ il primo ripetutamente uccise le larve di *Culex* in 8^h - 10^h, il secondo in 10^h - 12^h. Analogamente dicasi delle sopradette polveri insetticide.

d) Acque solfuree (Acque Albule di Tivoli):

Con gli stessi due colori, nelle medesime proporzioni suddette, si comportano come le acque paludose.

Esperienze in grande, fatte in campagna, dentro stagni di acque sia paludose come solfuree, hanno confermato i suddetti risultati favorevoli ottenuti nelle ricerche di laboratorio.

Anche nelle acque solfuree agiscono le polveri insetticide suddette.

e) Acque putride:

La putrefazione diminuisce l'efficacia del petrolio, forse ossidandolo, e la rende meno durevole. Invece anche nei liquidi putridi il Gallol al 0.50 $^0/_{00}$ agisce ugualmente bene, anzi ne rallenta la decomposizione. Però tanto in soluzioni coloranti più deboli, quanto in quelle che si vanno scolorando col tempo, non appena interviene la putrefazione, arresta e interrompe bruscamente l'efficacia larvicida di questa sostanza. Altrettanto accade per le accennate polveri insetticide.

4. *Stato delle acque* (modo di raccolta, ecc.):

Anzitutto è importante osservare se per caso la terra del fondo degli acquitrini, degli stagni o dei laghi, e quella in sospensione dentro le acque torbide, alterino l'energia larvicida, specialmente dei colori di anilina. A questo scopo vennero fatte molte esperienze comparative in vasi grandi, con e senza terra nel fondo, coi due colori più efficaci, mescolati o no col mordente, e adoperati in proporzioni differenti. S'è potuto così dimostrare che con la presenza della terra nel fondo dei vasi l'azione larvicida non cambia e con il Gallol si mantiene, come vedremo, anche

a lungo, anzi tanto più a lungo, per quanto è più alto sopra il fondo di terra lo strato dell'acqua.

L'estensione della superficie delle acque in rapporto con la loro quantità, acquista un notevole valore per quelle sostanze che agiscono in superficie togliendo o scemando l'area e l'aria respiratoria di cui hanno assoluto bisogno le larve e le ninfe.

In pratica si possono dare i due casi estremi o di laghi e stagni con alto fondo, o di piccole pozzanghere e veli di acqua a basso strato e superficie larga e più o meno irregolare. Come nell'uno e nell'altro caso si comporti il petrolio fu l'oggetto di speciali ricerche.

TABELLA VI.

Azione culicida del Petrolio sulle larve e ninfe di zanzare
(gen. Culex)
a temperatura ordinaria.

Numero	QUANTITÀ di Petrolio in ccm.	SUPERFICIE dell'acqua in cmq.	QUANTITÀ dell'acqua in litri	Massima durata in vita	
				larve	ninfe
1	0.02	100	1	sopravvi.	sopravvi.
2	0.05	»	»	»	»
3	0.10	»	»	6h	5,h 30
4	0.20	»	»	4h	4h
5	2.00	1,000	40	4h	4h
6	2.00	10,000	»	sopravvi.	sopravvi.

Da queste cifre risulta chiaro ancora una volta che il petrolio svolge un'azione larvicida puramente meccanica, cioè sottraendo aria. La quantità che ne occorre è quindi proporzionale alla superficie di acqua da disinfettare. E se lo strato non è tale da ricoprire tutta la superficie di contatto con l'atmosfera, la sua azione diventa subito nulla.

5. *Età delle larve:*

Come abbiam detto in principio, e ripetemmo a proposito della distruzione delle uova, le larve giovanissime o giovani si lasciano molto più facilmente distruggere che quelle adulte; il che dalla Tabella VII che segue risulta all'evidenza:

Tabella VII.

Azione di sostanze culicide sulle larve giovanissime di zanzare (gen. Culex) a temperatura ordinaria (18° - 20°)

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	Massima durata in vita	
		larve giovani	larve adulte (controllo)
1	Latte di calce 1 ‰	72h	sopravv.
2	Acqua salata 10 ‰	72h	sopravv.
3	» » 5 %	2h	15h
4	Petrolio 0.05 per 100 c. m. q.	5h, 30′	sopravv.
5	» 0.10 » » »	3h, 30′	6h
6	Gallol 0.50 ‰	2h	12h
7	» 0.025 ‰	4h - 5h	24h
8	» 0.0125 ‰.	6h	24h
9	» 0.0062 ‰.	3h - 12h	30h
10	» 0.0031 ‰.	14h - 16h	30h
11	» 0.0015 ‰.	24h	48h
12	» 0.00078 ‰	36h	sopravv.
13	Verde Malachite 0.50 ‰	3h - 6h	12h
14	» » 0.025 ‰	12h	36h
15	» » 0.012 ‰	18h	sopravv.

Appendice: *Sostanze che uccidono le larve e le ninfe del gen. Anopheles.*

Finora abbiamo veduto che le larve e le ninfe di questo genere hanno l'abitudine di vivere piuttosto isolate, e negli stessi acquitrini e stagni malarigeni non se ne trovano mai in quel gran numero nel quale si possono avere quelle del gen. *Culex.*

Non abbiamo quindi potuto con queste larve esperimentare su materiale così esuberante come con quelle dell'altro genere. Tuttavia, così di larve giovanissime o adulte come di ninfe delle due specie *claviger* e *bifurcatus* ne abbiamo avute a bastanza per provarle con calce, permanganato di potassa, sal comune, solfato di ferro, acqua solforosa, sublimato, lisolo, olio comune e petrolio, infuso di tabacco, Gallol e Verde malachite; e sempre contemporaneamente, per controllo, abbiamo provato le stesse sostanze con larve giovanissime o rispettivamente adulte del gen. *Culex*.

Dalla media di tutte le esperienze ci siam fatta la convinzione che anche esse larve o ninfe del gen. *Anopheles* all'azione deleteria di queste fra le più efficaci sostanze larvicide non oppongono una resistenza sostanzialmente diversa.

B) *Durata di azione delle sostanze che uccidono larve e ninfe di zanzare.*

Questa condizione è assai importante dal punto di vista pratico, specialmente in rapporto col prezzo, e quindi con la spesa necessaria per compiere una distruzione di zanzare.

Tabella VIII.

Durata di azione di sostanze culicide sulle larve e ninfe di zanzare
(gen. Culex)
in soluzioni di diversa data.

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	MASSIMA durata in vita delle larve				MASSIMA durata in vita delle ninfe			
		Soluzione recente	Soluzione di 1 giorno	Soluzione di 3 giorni	Soluzione di 5 giorni	Soluzione recente	Soluzione di 1 giorno	Soluzione di 3 giorni	Soluzione di 5 giorni
1	Acqua solforosa satura a 18°	20′	25′	50′	22h	25′	1h	24h	soprav.
2	Polvere di crisantemi 0,50 ‰	2.h30	24h	36h	soprav.	3h	soprav.	—	»
3	» » 0,25 ‰	4h	72h	soprav.	—	6h	id.	—	—
4	Lisolo 0.50 ‰ a 35°. . . .	38′	2h	52h	soprav.	40′	6h	soprav.	soprav.
5	Ammoniaca 2 ‰ a 18°. . .	5h	12h	14h	»	6h	soprav.	»	»
6	Petrolio 0.20 per cmq. 100 .	4h	4h	soprav.	»	4h	4h	»	—
7	» 0.10 » 100 .	6h	soprav.	—	—	5.h30	soprav.	»	—
8	Carburo di Calcio 10 ‰ . .	5h	12h	36h	soprav.	8h	12h	60h	soprav.

Si vede chiaramente come dei vari mezzi qui sopra adoperati per più giorni di seguito il primo a perdere la sua azione larvicida è il petrolio, che svaporando e scomponendosi non riesce più a ricoprire tutta la superficie dell'acqua. Difatti nella dose di cc. 0.20 per 100 cmq. dura per

due giorni a 18°; ma a 35°-37° non agisce già più dopo un giorno come neanche nella dose larvicida minima di cc. 0.10 per 100 cmq. In confronto con la durata di quest' azione larvicida del petrolio devon essere messe le due più efficaci sostanze coloranti suddette.

Per questo scopo furono istituite molte esperienze nelle condizioni più vicine a quelle che si hanno in campagna, cioè con acque paludose e con acque solfuree in grandi recipienti con e senza terra nel fondo.

E si è trovato che in acque paludose e con terra al fondo:

Gallol . . .	al 0,50	°/₀₀	dopo	45	giorni	è attivissimo
» . . .	» 0.025	»	»	14	»	»
» . . .	» 0.0125	»	»	4	»	»
Verde malachite	al 0.50	»	»	12	»	»
» »	» 0.25	»	»	12	»	»

Per ognuno dei due colori, se la soluzione è in istrato molto sottile sopra un abbondante fondo di terra si abbrevia un poco la durata dell' azione larvicida.

Anche nell' acqua solfurea, come in quella molto paludosa, la durata di azione del Gallol è più lunga che quella del Verde malachite. Difatti a vista d' occhio si vede che questo ultimo composto si scolora presto in soluzione acquosa, anzi se vi si aggiunge il mordente solfato di ferro, peggio poi la calce, si scolora anche più rapidamente. Cosicchè ancora una volta risulta per questo scopo larvicida la superiorità del Gallol sul Verde malachite. In tutti i casi sopradetti l' efficacia larvicida è cessata istantaneamente, come si è ricordato, non appena è comparsa la putrefazione dell'acqua, sotto forma di un velo dei protei alla superficie.

La terra del fondo, la luce solare diretta, allontanando questa comparsa della putrefazione anche nelle soluzioni coloranti molto diluite concorrono a prolungare l' efficacia larvicida delle dette sostanze. E in conclusione da tutte le nostre esperienze risulta indubbiamente che il Gallol in ispecie, fra tutti i mezzi usati da noi per uccidere le larve di zanzare, spiega per più lungo tempo la sua efficacia larvicida.

C) *Praticità:*

Più che tutto interessa conoscere se le sostanze adoperabili largamente in campagna a scopo larvicida, ovunque le acque possono essere nido delle larve di zanzare, siano di uso molto facile, se avvelenino le acque stesse eventualmente potabili dagli animali e dall'uomo, se danneggino le piante delle colture irrigue, come marcite e risaie.

Or bene, fra tutte le più efficaci sostanze larvicide, l' anidride solforosa finora non è pratica; perchè se si deve produrre bruciando solfo,

occorrono degli apparecchi più o meno incomodi; e se anche si potesse avere liquida dentro cilindri di ferro, l'uso in campagna non sarà mai facile, a parte anche la questione del prezzo. Certo sarebbe utile anche perchè distrugge eziandio altri insetti nocivi all'agricoltura. Ma danneggia la vegetazione come abbiam potuto persuadercene in un'esperienza in grande; se questa vegetazione è quella palustre che ostruisce i canali e ostacola il corso delle acque, sarebbe un bene, ma viceversa, se quella delle colture irrigue sarebbe un danno.

Per tutte queste ragioni l'uso dell'anidride solforosa, a scopo larvicida, non potrà essere che assai limitato.

Il petrolio invece è di uso relativamente facile anche negli stagni o laghi grandi. Il pesce non vi muore, come non vi muoiono altri animali inferiori. Gli erbivori per bere se ne schivano. Nelle acque stagnanti la vegetazione, talvolta abbondantissima alla superficie, ne ostacola l'azione meccanica; nelle acque anche poco correnti dev'essere spesso o continuamente rinnovato il suo strato superficiale. Si aggiunga che la sua azione è proporzionale alla sua diffusibilità sulla superficie delle acque. Perciò il petrolio più è leggero e meglio agisce; ma in questo caso l'azione dura anche meno.

Per esempio in commercio vengono alcune qualità di petroli che gittati sull'acqua non si diffondono, ma restano in forma di gocciole più o meno grosse. Queste sono le qualità meno indicate per la distruzione delle larve.

Le dette polveri insetticide sono di facilissimo uso, e per la via gastrica, anche in alte dosi, non velenose agli erbivori, ma velenose pure ad alcuni vermi, molluschi e pesci.

Le sostanze coloranti, quando sono, come le due sopradette, molto solubili e diffusibili nell'acqua, sono altresì molto pratiche e facili ad adoperare. In pratica conviene di farne prima soluzioni molto concentrate, e poi diluire queste nell'acqua dove si vogliono distruggere le larve. Per regolarne la proporzione è molto comodo procedere col criterio colorimetrico. Ossia se ne sciolgono in acqua le proporzioni per mille indicate nella Tabella III. Si fa l'occhio coi toni dei colori che prendono queste soluzioni; e così ad occhio si può ottenere in grande l'una o l'altra proporzione che si vuole adoperare senza che ci sia neppure bisogno di misurare prima la quantità d'acqua da disinfettare dalle larve.

Esse distruggono anche tutti gli animali che vivono in un'acqua, compresi i pesci e i girini delle rane: così dunque contemporaneamente si possono distruggere molti altri animali nocivi all'agricoltura, il che, dal punto di vista dell'economia agraria, non è poco.

Quanto alla velenosità nei mammiferi, il Verde malachite ci era noto già come innocuo.

Il Gallol abbiam trovato che è innocuo alla dose di
gr. 0.20 sottocute o per bocca a un coniglio o a una cavia di 400 gr.
» 0.50 » » cane di 3 kg.

La minima dose certamente letale per la cavia e pel coniglio del peso suddetto è di gr. 0.50, e la morte si ha in convulsioni, come coll'acido fenico.

All'autopsia si nota, se l'inoculazione è stata fatta sottocutanea, un edema gelatinoso del medesimo colore del materiale iniettato, nel luogo di inoculazione, i visceri in genere di colorito pavonazzo, la vescica piena di urina colorata, reni flaccidi, ecc. Se l'inoculazione è stata fatta per bocca, si notano gli stessi fatti, meno quelli a carico del sottocutaneo, più un lieve stato catarrale dell' intestino.

I cani con dosi superiori a gr. 0.50 per bocca vomitano; ma ne possono tollerare senza morire fino a gr. 5.

Che alle dosi nelle quali può essere il Gallol sciolto nell'acqua a scopo larvicida sia innocuo pei mammiferi potemmo averne la controprova.

In una delle esperienze in grande per la distruzione delle larve accadde che una mandria di pecore andò ad abbeverarsene senza alcun danno.

Questi colori non danneggiano affatto, neanche nelle loro soluzioni più cariche, le piante erbacee, e quindi neppure le erbe delle marcite; le quali hanno sopportato benissimo ripetute e abbondanti irrigazioni consecutive.

Per decidere sull'uso delle più efficaci sostanze larvicide l'ultima parola spetta al

D) *Prezzo.*

Vediamo questo prezzo delle sostanze larvicide di più facile uso, nelle loro dosi minime letali, alla stregua del prezzo corrente:

SOSTANZA CULICIDA	QUANTITÀ	COSTO
Per metro cubo.		
Ammoniaca di media concentrazione 2 % . .	Litri 20	Lire 4
Carburo di calce 10 ‰.	Kgr. 10	» 6.50
Cloruro di calce 1 ‰	» 1	» 0.26
Bicromato potassico 1‰	» 1	» 1.60
Permanganato potassico 0.5 - 1%	» 5-10	» 10.50-21
Gallol 0.0062 - 0.0007 ‰	gr. 6.20-0.7	» 0.04-0.005
Verde malachite 0.0125 - 0.0031 ‰	» 12.50-3.1	» 0.19-0.05
Polvere di crisantemi (fiori chiusi) 0,006-0,003 ‰	» 6-3	» 0,02-0,015
» » 2ª qualità 0,01-0,06 »	» 60-10	» 0,15-0,025

SOSTANZA CULICIDA	QUANTITÀ	COSTO	
Per metro quadrato.			
		senza dazio	con dazio
Petrolio 0.10	cc. 100	L. 0.016	L. 0.065
» 0.20	» 200	» 0.032	» 0.13

L' enormità del costo, nella dose larvicida necessaria, mette fuori questione tutte le sostanze minerali, compreso il più a buon mercato cloruro di calce.

Evidentemente le polveri vegetali, le sostanze coloranti e il petrolio sono al prezzo il più basso per farne delle larghe applicazioni in grande. E le piante di crisantemi dalle quali provengono le dette polveri si possono da noi coltivare in grande, e quindi queste polveri si potranno avere a un prezzo molto più basso che non vengono ora in commercio.

Delle due sostanze coloranti il prezzo non è definitivo ma, con l'eventuale spaccio in grande, suscettibile di ribassare.

Un confronto esatto non si può fare, circa il prezzo, fra le sostanze coloranti e il petrolio, questo agendo in superficie o per sospensione, quelle in soluzione. Ad ogni modo la scelta dev' essere regolata caso per caso, tenendo conto più specialmente, come abbiam detto, della durata di azione, delle condizioni dell' acqua, e de' suoi usi agricoli.

Nel calcolo del prezzo va aggiunto che le sostanze coloranti hanno azione più lunga e, al pari delle polveri insetticide, diffusibile anche ad altri animali dannosi all' agricoltura.

V.

Sostanze che uccidono le zanzare perfette.

L' *esperienza popolare* più che altro si è preoccupata di trovare sostanze che allontanino le zanzare dall'uomo e dalle sue abitazioni.

Così è noto che i pecorari e contadini della Campagna romana, col fuoco e col fumo cercano di preservarsi dalle zanzare; in questo senso, le capanne di paglia ove vivono, col focolare che dà fumo nel mezzo e ne riempie l'ambiente, sono migliori delle abitazioni in muratura, fatte senza alcun criterio speciale di difesa contro la malaria.

Lind (1779) assicura, inoltre, che il portare al collo un sacchetto con aglio e canfora serve come profilattico contro le febbri di stagione; ciò

che fu riconsigliato, alcuni anni or sono, dal Mantegazza alle nostre povere risaiuole. Così pure in Sardegna, ad Orosei e Dorgàli, la gente per allontanare le zanzare costuma di tagliare gli spicchi d'aglio, e sfregarne la faccia e le altre parti scoperte, come anche i sostegni del letto ove dorme.

Ed è pure conosciuto che alcuni individui hanno tali esalazioni cutanee, che non sono punti dalle zanzare; come è ben conosciuto che le varie so stanze che si vendono per avere sonni tranquilli nei luoghi infestati da zanzare, non le uccidono così come più o meno riescono ad addormentarle.

Per quanto a noi consti, di *ricerche sperimentali già fatte,* a scopo di uccidere le zanzare che volano, non ce ne sono. V' hanno poche osservazioni indirette, come quelle del Silvestri, che anche D' Abbadie (1882) cita, sulla immunità dei solfatari di Sicilia dalla malaria. E tra le sostanze che servono per allontanare le zanzare ricordiamo [1] che Weeder (1880) vanta il bruciare le foglie di *Mentha pulegium* (o il suo olio essenziale); Campbell (1891) decanta molto il fumo del piretro, perchè così le zanzare in una camera cadono tramortite e possono essere spazzate via.

Ma volendo appunto con tutta esattezza giudicare dell'azione propriamente zanzaricida di qualsivoglia sostanza, occorre differenziar bene la morte apparente dalla morte reale.

Questa distinzione è fondamentale, sia per classificare nell' ordine della loro vera azione zanzaricida le varie sostanze, sia per non accreditare a tale scopo sostanze che poi non valgano, in realtà, che ad addormentare le zanzare.

Occorre dunque sperimentare in modo da non cadere in equivoci.

Da un punto di vista pratico distinguiamo le sostanze adoperate in 3 categorie, cioè: di odori, fumi e gas.

Noi abbiamo esperimentato gli odori in un piccolo spazio d'una campana di vetro, posta sopra la sostanza odorante, a sua volta contenuta in una cassula di vetro ricoperta d'un velo; pei fumi e gas abbiamo invece usata una camera di legno e vetro, della capacità di circa litri 100, ideata e descritta dal Rosenthal [2] per le dimostrazioni scolastiche delle leggi della ventilazione degli ambienti. Si poteva così avere uno spazio molto simile ad una camera d' abitazione, e messo perfettamente a giorno, in maniera da poter seguire coll' occhio il comportarsi delle zanzare sotto l' azione delle varie sostanze.

Provammo ogni volta con zanzare di più specie, prese nella campagna, e per assicurarci, ad esperienza finita, della morte reale o no, le

---

[1] Nuttal. loc. cit.

[2] *Vorlesungen ueber die öffentliche und private Gesundheitspflege.* Erlangen, 1887, p. 185.

raccoglievamo entro recipienti, nei quali si vedeva poi se potevano o no riaversi.

Abbiamo così potuto osservar bene come gli angoli morti, eventualmente le fissure ove si annidino le zanzare, possano offrire più o meno un riparo contro le sostanze volatili anche efficaci contro di esse.

Perciò i risultati che esporremo nella seguente Tabella 9 rappresentano *ciò che in realtà si ottiene quando tutto lo spazio di un ambiente ristretto sia stato invaso da una data sostanza odorosa o vaporosa fino ad esserne del tutto saturato.* Per questo scopo bruciammo, p. es., dentro la camera suddetta, di tabacco, di polvere di piretro o di pece gr. 2, di fiori di camomilla o di legno quassio gr. 5, delle varie foglie, dei fiori di crysant. myc., e di legno comune gr. 25; dei cosidetti coni zanzaricidi ne bruciammo nientemeno che due dentro il piccolo spazio suddetto.

Il loro modo e tempo di azione risulta dalla Tabella seguente;

Tabella IX.

Azioni di sostanze culicide sulle zanzare.
(C. annulatus — C. pipiens — A. claviger e bifurcatus)

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	TEMPO in cui si manifesta la morte	
		apparente	reale
	I. — *Odori.*		
1	Odore di olio essenziale di trementina . . .	1′	1′
2	» iodoformio	10′	40′
3	» mentol	10′	45′
4	» noce moscata	10′	2h
5	» canfora	4′-5′	4h-5h
6	» aglio	5′-10′	5h
7	» pepe pesto	20′	6h
8	» naftalina.	10′-35′	8h
9	» assenzio romano.	6h	24h
10	» cipolla	4h-6h	sopraviv.
11	» salvia.	—	»
12	» rosmarino	—	»
13	» basilico secco e fresco.	—	»
14	» cannella	—	»
15	» assafetida	—	»

Segue: Tabella IX.

Numero	SOSTANZE ADOPERATE	TEMPO in cui si manifesta la morte	
		apparente	reale
	II. — *Fumi.*		
1	Fumo di tabacco	all'istante	1'-3'
2	» polvere di crisantemi (fiori chiusi) .	5'	1h
3	» foglie fresche di eucalipto	3'-5'	3h
4	» legno quassio	16'	5h
5	» polvere di piretro	5'	8h
6	» foglie secche di mentha pulegium .	5'	8h
7	» pece	10'-13'	8h
8	» fiori di crysanthemum myconis . .	10'	12h
9	» foglie di basilico secco.	2'-6'	24h
10	» rosmarino secco	7'-12'	24h
11	» coni zanzaricidi (zampironi) . . .	12'	36h
12	» fiori di camomilla secca	4'	36h
13	» foglie secche di saturegia hortensis.	4'	36h
14	» foglie di salvia	8'-10'	36h
45	» legna	5'-7'	12h-48h
16	» resina guaiaco.	12'	sopravviv.
17	» mirra	15'	»
18	» gomma elemi	15'	»
19	» incenso	15'	»
	III. — *Gas.*		
1	Anidride solforosa	all'istante	1'
2	Idrogeno solforato.	»	1'
3	Ammoniaca	1'	2'
4	Gas illuminante.	1'	2'
5	Formaldeide (apparecchio di Trillat)	2'	10'-15'
6	Solfuro di carbonio	15'-30'	sopravviv.
7	Acetilene	—	»

In questa precedente Tabella IX le varie sostanze procedono coll'ordine in cui producono la morte reale delle zanzare aeree.

Si vede così che in prima fila vi ha fra gli odori la trementina e lo iodoformio, tra i fumi quello di tabacco, il di cui infuso vedemmo già larvicida potente; fra i gas, l'anidride solforosa, che già incontrammo efficacissima contro le larve e le ninfe.

Altre sostanze molto pratiche e quindi molto utili sono, tra gli odori, la noce moscata, la canfora e l'aglio, le due ultime accreditate già dalla esperienza popolare; tra i fumi, quelli di fiori di crisantemi di foglie fresche di eucalipto, di legno quassio e di piretro. Non c'è bisogno quindi di spendere per comprare preparati commerciali (razzíe, zampironi); ognuno se li può procurare da sè; e in casi di necessità, può servire anche il semplice fumo di legna, come fu dall'esperienza popolare trovato utile nelle capanne dove abitano da secoli i nostri coltivatori dell'Agro romano.

Dei gas, il più pratico, e nell'istesso tempo efficace come zanzaricida, è il fumo di solfo bruciato; il solfuro di carbonio, così vantato come insetticida, è invece, in uno spazio grande, a causa della sua pesantezza, inattivo.

In definitiva, la distruzione delle zanzare nelle case è molto più facile che qualsiasi disinfezione batterica delle abitazioni.

VI.

Conclusioni e corollari pratici.

1. Di tutto il tempo che dura la vita delle zanzare, gli stadi nei quali è più facile distruggerle sono quelli o di larve o di zanzare aeree; nel primo caso si possono uccidere tanto meglio per quanto sono più giovani.

2. Per uccidere le larve, fra tutte le moltissime sostanze sperimentate, abbiamo in ordine decrescente di azione zanzaricida:

a) Fra le sostanze minerali: anidride solforosa, permanganato potassico più acido idroclorico, sal comune, potassa, ammoniaca, carburo di calce, sublimato corrosivo, cloruro di calce, e poi bisolfiti, solfato di ferro o di rame, calce, bicromato potassico, solfuro sodico;

b) Fra le sostanze organiche: polveri di fiori chiusi di crisantemi, tabacco, petroli e olii, formalina, cresoli, alcuni colori di anilina (gallol, verde malachite), catrame.

Tenuto conto però della dose larvicida necessaria, della praticità e del prezzo, tutte le sostanze minerali e alcune di quelle organiche passano fuori discussione, e restano in campo le polveri vegetali, il petrolio, i colori di anilina.

3. Per uccidere le zanzare aeree abbiamo odori, fumi o gas. Stanno in prima fila tra gli odori: olio essenziale di trementina, iodoformio, mentol, noce moscata, canfora, aglio; tra i fumi: quello di tabacco, polvere di fiori di crisantemi, foglie fresche d'eucalipto, legno quassio, polvere di piretro; tra i gas: l'anidride solforosa. È però da notare che questi odori, o fumi, o gas per esercitare l'azione loro zanzaricida devono riempire o saturare tutto quanto l'ambiente; in caso diverso non danno che una morte apparente, o non ispiegano che, tutt'al più, un'azione zanzarifuga, ciò che talora potrà, dentro le abitazioni, essere utile a preservare l'uomo dalle punture delle zanzare e ad impedire a queste d'infettarsi, succhiando sangue del malarico.

4. Il problema della distruzione delle zanzare è sperimentalmente solubile; ma praticamente lo sarà quando l'interesse economico lo vorrà. In quest'ultimo senso è notevole che l'antichissimo uso larvicida del petrolio non siasi diffuso abbastanza neanche dove è più a buon mercato; ed è probabile che forse verranno preferite quelle sostanze le quali distruggono altri animali acquatili, dannosi all'agricoltura, e forse anche più quelle che si potranno avere coltivandole sul posto. Per esempio, coltivando in grande le piante di crisantemi (Chrysanthemum cinerariae folium, etc,) dalle quali provengono le polveri zanzaricide, è molto probabile che si giunga a far sì che il luogo stesso malarico produca ciò che valga a risanarlo dalle zanzare che lo infestano.

5. L'epoca opportuna per distruggere le larve è l'inverno, quando esse dentro le acque sono nel minor numero, e nuove generazioni non se ne fanno: è questo perciò il momento nel quale è più facile attaccarle. Distruggere le zanzare dentro le abitazioni è sempre possibile; ma per l'effetto in grande sarà anche più utile farlo nell'inverno, quando sono tutte rifugiate nei luoghi abitati o comunque riparati. La conoscenza più perfetta dei loro costumi, cioè dei luoghi e del tempo quando vi si annidano, aiuterà molto la riuscita di questa distruzione, la quale, anche nei casi più favorevoli, cioè quando la bonifica idraulica abbia esaurito il suo compito, sarà in grande un'opera non tanto agevole come alcuni credono e vantano. Cionondimeno dopo i tesori spesi dalle nazioni e dai

privati per preservare la vite dall'oidio, dalla peronospora e dalla fillossera, è sperabile si faccia qualcosa anche per salvare dalle zanzare della malaria la vita dell'uomo.[1]

Roma, 12 maggio 1899.

APPENDICE.

Seguitando a lavorare su questo stesso argomento, dopo la pubblicazione della precedente memoria, abbiamo ricevuto dalla casa Weiler-ter Meer, di Uerdingen, un altro colore giallo, il *Larycith III,* che ci si dimostrò subito dotato di un'azione culicida anche più forte che i colori sopracitati.

Abbiamo quindi fatto oggetto di speciali ricerche questa sostanza, la quale d'altro canto ci si raccomandava anche pel suo modico prezzo.

Azione del Larycith sulle uova di zanzara.

Come abbiamo già rilevato sperimentando sulle uova di *C. pipiens,* che sono le più facili ad avere, per ucciderle non sempre bastano quelle sostanze e in quelle proporzioni più alte che occorrono per uccidere le larve adulte.

Così pure si diporta il Larycith. Però abbiamo potuto vedere che le larve giovanissime o appena nate resistono pochissimo alla medesima sostanza in diluizioni anche molto maggiori di quelle necessarie per uccidere le larve adulte, come vedremo in seguito.

Azione sulle larve di zanzare.

Il Larycith ha come gli altri colori anilinici, azione sulle larve e non sulle ninfe: appartiene quindi a quella categoria di sostanze che uccidono le sole larve di zanzara.

---

[1] Poichè queste nostre ricerche sulla distruzione delle zanzare sono appena iniziate, e intendiamo continuarle, saremo grati a tutte quelle fabbriche di prodotti chimici, le quali volessero inviarci un campione delle loro sostanze, che per l'*esiguità del prezzo* fossero da provare in grande, secondo i criteri da noi esposti.

Partendo da una soluzione di Larycith al 0.50 $^0/_{00}$, e scendendo a diluizioni via via maggiori, siamo venuti ai risultati che trovansi esposti nella seguente tabella:

Azione del Larycith III sulle larve di zanzare (gen. Culex).

Numero d' ordine	Proporzione per mille	Durata in vita delle larve
1	0.50	2^h
2	0.25	2^h,45
3	0.125	4^h
4	0.062	5^h
5	0.031	6^h
6	0.0125	7^h
7	0.0062	9^h
8	0.0031	16^h
9	0.0015	24^h
10	0.0007	48^h
11	0.00031	72^h

I quali risultati ci portano a concludere che tra i colori di anilina (turchini, violetti, rossi, gialli e verdi) ai due che spiegano l'azione più energica, quali il Gallol e il Verde Malachite *A*, va aggiunto il Larycith III.

Di questi tre colori, il più attivo è il Larycith III, la cui dose certamente larvicida è 0.0015 $^0/_{00}$ mentre pel Gallol è 0.0062 $^0/_{00}$ e pel Verde Malachite *A* è 0.0125 $^0/_{00}$.

La minima dose larvicida del Larycith può scendere sino a 0.00031 $^0/_{00}$, mentre pel Gallol si arresta a 0.0007 e pel Verde Malachite *A* a 0.0031.

Condizioni che modificano l'attività del Larycith.

Mordenti. — Dall'aggiunta dei mordenti ai colori anilinici, ottenemmo risultati così scarsi da dover concludere non valer la pena di usarne. Anche se al Larycith si aggiungono alcuni di tali mordenti non si riesce a ottenere un'azione culicida più forte: aggiungendo però la soda o l'ammoniaca, le quali permettono che il colore si sciolga più facilmente, si abbrevia il tempo che il Larycith impiega nelle diverse soluzioni per agire sulle larve.

Azione del Larycith sulle larve di zanzara (gen. Culex) **in soluzioni con o senza mordenti.**

Proporzione per mille del colore	DURATA IN VITA DELLE LARVE		
	in soluzione acquosa senza mordenti	in soluzione acquosa con mordenti	
		Soda 0.50-1 ‰	Ammoniaca 0.50-1 ‰
0.25	2h.45	1h.35	1h.50
0,125	4h	2h	2h.15
0.062	5h	2h,30	3h
0.031	6h	3h	3h.40
0.0125	7h	4h	5h
0.0062	9h	6h	6h.30
0.0031	16h	8h - 12h	9h
0.0015	24h	9h - 15h	11h
0.0007	48h	15h - 18h	15h
0.00031	72h	24h - 48h	26h - 48h
0.00015	sopravvivono	36h - sopravvivono	48h - sopravvivono

Diminuendo la quantità del mordente, sempre che si tratti di soda o di ammoniaca, si continua a ottenere un certo vantaggio nella rapidità dell'azione culicida del Larycith, purchè però la quantità del mordente non si riduca al disotto del 0.0062 ‰.

Difatti mentre nella soluzione di colore al 0.0007 $^0/_{00}$ le larve muoiono in 48^h senza l'aggiunta di mordente e in 15^h-18^h con l'aggiunta di soda 0.50-1 $^0/_{00}$; nella stessa soluzione aggiunta di soda al 0.0062 $^0/_{00}$ le larve muoiono in un tempo intermedio, cioè in 24^h. Però se dalla proporzione di 0.0007 $^0/_{00}$ di colore si scende a quella di 0.0031 $^0/_{00}$, questa continua a uccidere le larve in 72^h ci sia o non ci sia il mordente nella proporzione del 0.0062 $^0/_{00}$.

Per ciò che si riferisce alla *luce solare*, alle *proprietà fisiche e chimiche delle acque* ove vivono le larve, allo *allo stato delle acque,* vale pel Larycith quanto è già stato detto per gli altri colori.

Riguardo all'*età delle larve* il Larycith uccide pure le larve giovanissime in soluzioni più deboli di quelle che sono necessarie per uccidere le larve adulte. Se poi vi si aggiunge la soda al 0.50-1 $^0/_{00}$ le dosi culicide diventano debolissime, come si può rilevare dalla seguente tabella:

Azione del Larycith sulle larve giovanissime di zanzare (gen. Culex) **in soluzioni con o senza mordenti.**

Proporzione per mille di colore	DURATA IN VITA DELLE LARVE			
	GIOVANISSIME		ADULTE	
	in soluzioni senza mordente	in soluzioni con soda 1 $^0/_{00}$	in soluzioni senza mordente	in soluzioni con soda 0.50-1 $^0/_{00}$
0.0031	14^h	10^h	16^h	8^h - 12^h
0.0015	24^h	13^h	24^h	9^h - 15^h
0.0007	36^h	16^h	48^h	15^h - 18^h
0.00031	40^h	26^h	72^h	24^h - 48^h
0.00015	72^h	30^h	sopravvivono	36^h - sopravvivono
0.00007	sopravvivono	40^h	»	»
0.000031	»	72^h	»	»
0.000015	»	sopravvivono	»	»
0.000007	»	»	»	»

Durata dell' azione culicida del Larycith III.

Vedemmo che il Gallol e il Verde Malachite *A* mantengono la loro azione culicida nelle soluzioni al 0.50 °/₀₀, il primo per 45 giorni, il secondo per 12ʰ giorni. Il Larycith III rivaleggia benissimo col Gallol perchè mantiene la sua azione ancora dopo 52 giorni.

Come il Gallol poi si diporta quando la soluzione è in istrato sottile sopra abbondante fondo di terra e quando intervengono fenomeni putrefattivi.

Praticità.

Il Larycith ha le stesse proprietà degli altri colori anilinici, cioè è solubile e diffusibile nell' acqua. Come il Gallol, in pratica, va sciolto prima facendone soluzioni concentrate che vanno diluite poi nell' acqua dove si vogliono distruggere le larve.

Quando però non si aggiunga all' acqua un mordente alcalino, che ne favorisca la solubilità, è necessario che le soluzioni concentrate si lascino a sè per 24ʰ affinchè tutto il Larycith abbia il tempo di sciogliersi.

Il Larycith distrugge gli animali che vivono nell'acqua, compresi i pesci e quindi può anche distruggere animali nocivi all' agricoltura.

Non è velenoso pei mammiferi. I conigli possono ingerirne senza disturbi fino a 50 cgr. in una volta; e sopportano nella stessa guisa sino a 25 cgr. inoculandoli sottocute. Una pecora che bevette per 8 giorni una soluzione di Larycith al 0.025 °/₀₀ non ne subì alcun disturbo.

Prezzo.

	Per metro cubo d' acqua	
	Quantità	Costo
Larycith 0.0015-0.00031 °/₀₀.	gr. 1.5-0.31	L. 0.0056-0.0012

Risulta dunque che questo è il mezzo larvicida più a buon prezzo non solo fra i colori di anilina, ma eziandio fra tutti i mezzi larvicidi finora conosciuti.

Azione del Larycith sulle zanzare perfette.

Edotti dal fatto che la polvere di crisantemi non è solo un potente veleno per le larve quando è messa in infuso nell'acqua, ma lo è anche,

bruciata, per le zanzare perfette, abbiamo voluto vedere se anche il Larycith bruciato uccidesse le zanzare perfette, così come uccide le larve.

Le esperienze vennero condotte nello stesso modo di quelle già descritte per studiare l'azione di diverse sostanze sulle zanzare alate.

Esse ci portarono a vedere che il Larycith bruciato uccide così prontamente le zanzare aeree da doversi collocare subito fra i mezzi più efficaci che possediamo per questo scopo.

Roma, settembre 1899.

Allegato A.

Numero	SOSTANZE ADOPERATE
1	Infusi acquosi saturi di polveri di piretro, e cosidette insetticide.
2	Estratto alcoolico di polvere di piretro 10 $^0/_{00}$ d'acqua.
3	Infusi acq. sat. di foglie di eucalipto, di fiori d' artemisie.
4	Infuso acq. sat. di aloe.
5	Etere solforico.
6	Etere di petrolio.
7	Acqua gassosa per acido carbonico.
8	Acqua solfidrica.
9	Acque albule.
10	Acido arsenioso in sol. ammoniacale al 10 $^0/_0$.
11	Permanganato potassico $^N/_{100}$ e 1 $^{10}/_{00}$.
12	Saponi di diverse specie sol. acq. 1 $^0/_0$.
13	Resina colofonia.
14	Saponi e resina.
15	Saponi e acido arsenioso sol. acq. 1 $^0/_0$.
16	Black 10 $^0/_0$.
17	Olio minerale pesante 10 $^0/_0$.
18	Ammoniaca 1 $^0/_0$.
19	Petrolio cc. 0.05 per cmq. 100 di superficie.
20	Borace 1 $^0/_0$.
21	Bisolfato di potassa 1 $^0/_{00}$.
22	Acido cromico 1 $^0/_{00}$.
23	Acido tannico 1 $^0/_{00}$.
24	Acido tannico 2 $^0/_0$.
25	Solfuro sodico 1 $^0/_0$.
26	Carburo di calcio 5 $^0/_{00}$.

Allegato B.

1	Alcali blau.	24	Blayrisch blau D. S. F.
2	» violet.	25	» de Bâle DB.
3	Alizarin.	26	» » » R.
4	» blau.	27	» flourescent en pâte.
5	» marrone.	28	Bordeaux B extra.
6	» D. N. W.	29	» C. O. V.
7	» F.	30	Brillant orange.
8	» N. 6.	31	Chinolin gelb wassl.
9	Azo blau.	32	Cianin B.
10	» flavina.	33	Cromotrop 2 R.
11	» fuchsina.	34	» 6 B.
12	» fuchsina G.	35	Chrysamin G.
13	» marinblau.	36	Chrysanilin.
14	» saurefuchsina B.	37	Chrysoidin.
15	» saurefuchsina G.	38	Chrysophenin.
16	» rubin.	39	Coccin 2 B.
17	Azurin brillant.	40	Columbia gelb.
18	Benzoazurin G.	41	» orange R.
19	» 3 G.	42	Congo.
20	» schwarzblau G.	43	» 4 R.
21	» » K.	44	» G. R.
22	Blauschwarz.	45	» brillant G.
23	Blayrisch blau D.B.F.	46	» brillant R.

47	Congo Braun.
48	» » R.
49	» Corynth B.
50	» » G.
51	» orange G.
52	» Roth.
53	» Rubin.
54	Diamant schwarz.
55	Diamin blau B.
56	» » 3 B.
57	» » schwarz C.
58	» » » B O.
59	» » » R O.
60	» roth B.
61	» » 3 B.
62	Diamin violet N.
63	Echt-Braun 3 B.
64	» » G.
65	» violet bläulich.
66	» » schwarz.
67	» Roth.
68	» » A.
69	» Saure violet A.
70	» » » B.
71	» » « R.
72	Erika B extra.
73	Erythrosin.
74	» B.
75	Eosamin B.
76	Eosin.
77	Eosin A G.
78	Gallamin blau.
79	Gallein pulver.
80	Hessichbrillant purpur.
81	» purpur N. B.
82	» violet.
83	Höchster neublau.
84	Hoffmann violet.
85	Ietzchwarz.
86	Indazin.
87	Indigo solfato sodico.
88	Indofenolo bianco.
89	Indulina.
90	Magdala roth.
91	Magenta.
92	Mandarin G extra.
93	Metanil gelb extra.
94	Metaphenilen blau B.
95	Methyleublau B extra.
96	» BB conc.

97	Methylenblau chim. pur.
98	» med. »
99	» f. Bwoll M. L. C.
100	Methylgrün.
101	Methylorange.
102	Naftilamin schwarz D.
103	Naftol gelb.
104	» schwarz B.
105	» » D.
106	» » P.
107	Neu-blau.
108	» Coccin.
109	Neutral-blau.
110	» violet extra.
111	Nigrosin.
112	Nilblau.
113	Orseille Ersatz V.
114	Patent blau.
115	» » B.
116	» » N.
117	» » superfin.
118	» » extra.
119	Paraphenylen-blau R.
120	» violet.
121	Palatin roth A.
122	Phloxin B. extra.
123	Ponceau B extra.
124	» G.
125	» 4 G B.
126	» 2 R.
127	» 3 R.
128	» 4 R.
129	» 6 R.
130	» 4 R B.
131	» 6 R B.
132	» 10 R B.
133	» S.
134	Regina violet.
135	Resorcina gelb.
136	Rodanina B.
137	Rosanilina.
138	» acetato.
139	» cloridrato.
140	Rossonaftalina.
141	» violetto puro.
142	Rubin gr. crystall.
143	Safranin.
144	» brillant G.
145	Saure fuchsin.
146	» gelb G.

147	Saure gelb D extra.
148	» violet.
149	Scarlat G R.
150	Sulfoazurin D.
151	Sudan II.
152	Tiefschwarz.
153	Tiocarmin R.
154	Tionin blau.
155	Toluylenblau B.
156	» » R.
157	Toluylen orange G.
158	Tropeolin.
159	Uranin.
160	s Victnu .eΛ
161	oria blau.
162	» gelb.
163	» scarlat.
164	» violet 4 B S.
165	Vinolin.
166	Violet crystall.
167	Wasser blau.

LA MALARIA NELLA PROVINCIA DI ROMA

NEL DECENNIO 1888-1897

Sua ripartizione nei Comuni e suoi rapporti con la pioggia caduta

RICERCHE

DEL

Prof. SAVERIO SANTORI

Con le Tavole IX-XV.

Dall' inchiesta sanitaria fatta eseguire nel 1885 dall' Ufficio centrale del Senato risulta che sui 284 circondari nei quali è divisa l' Italia ve ne sono 203 in tutto o in parte esposti alla malaria grave; 75 nei quali solo raramente si osserva qualche caso, e solamente 6 (Auronzo, Fonzaso, Longarone, Ampezzo, San Pietro al Natisone e Taranto) completamente immuni. Dalla stessa inchiesta risulta che su 8257 comuni esistenti nel Regno, in ben 4838 (con una popolazione complessiva di circa 20,000,000 di abitanti) si notano casi di malaria più o meno grave. Da tutti i dati fornitici dall' inchiesta suddetta e dalle statistiche fatte fino ad ora, non ci è però possibile conoscere con qualche esattezza il numero delle persone che annualmente sono colpite da questa malattia, alla denuncia della quale si oppone in special modo la noncuranza che ispira un flagello che siamo abituati a considerare come inevitabile e col quale ci troviamo giornalmente alle prese. Conoscendosi però il numero annuo delle morti (circa 15,000) e sapendosi dalle statistiche degli ospedali che la mortalità per febbri malariche oscilla intorno all' 8 per 1000 malati, potremo calcolare a circa 2,000,000 il numero delle persone che ogni anno ne vengono colpite.

La ripartizione di un numero così esorbitante di casi non si manifesta uniformemente nelle varie provincie del Regno; ed il triste primato appartiene al Lazio, dove, per ogni 100 persone ricoverate negli ospedali, circa 45 sono affette da febbri malariche. Negli ospedali di Roma questa cifra è molto più bassa (25 $^0/_0$) ed in rapporto col fatto di essere Roma

città, poco o punto esposta all' influenza di questa malattia: quasi tutti i malarici ricoverati nei suoi ospedali provenendo dalla campagna.

Pochi sono gli argomenti sui quali si è tanto scritto e discusso come sulla malaria, ed a buona parte dei quesiti riguardanti questa malattia si può dare al giorno d' oggi una risposta adeguata. Vi sono tuttavia dei punti intorno ai quali fino ad ora poca luce è stata fatta; e ciò non tanto per deficienza di ricercatori, quanto per la difficoltà di disporre di un sicuro ed attendibile materiale di studio. Le tradizioni e l' opinione popolare in molti di questi casi hanno supplito alle ricerche scientifiche, e si sono ritenuti per indiscussi certi principî che nel fatto non avevano alcun appoggio. A questa categoria appartiene la questione degli intimi rapporti esistenti fra l' intensità di malaria e la quantità della pioggia caduta. Ottimo consiglio perciò fu quello del prof. A. Celli di impiantare, d' accordo colla regia prefettura di Roma e cogli ufficiali sanitari dei comuni della provincia, un servizio regolare e continuato allo scopo di raccogliere e di registrare mensilmente il numero dei casi delle febbri malariche primitive verificatisi nei singoli comuni. Dal 1888 fino a tutto il 1897 la raccolta di tali dati è stata fatta regolarmente, ed è sopra un materiale così abbondante che mi sono accinto alle ricerche presenti, allo scopo:

1. di vedere quale sia, per la provincia di Roma, il decorso delle febbri malariche nei vari mesi dell' anno;

2. di appurare se fra il decorso delle febbri malariche e la quantità di pioggia caduta vi sia qualche rapporto;

3. di fare una carta esatta sulla distribuzione della malaria nella provincia di Roma, appoggiandosi al numero dei casi osservati posti in rapporto colla popolazione.

Considerando il numero rilevante (226) di comuni della nostra provincia ed il lungo periodo (un decennio) intorno al quale vertono queste ricerche, non è certamente possibile studiare l' andamento della malaria comune per comune. Ho creduto perciò utile, come già fece il Celli, [1] di studiare questo andamento e di cercarne i rapporti colle pioggie, prendendo complessivamente i risultati ottenuti nei 5 circondari della provincia di Roma, sommando, decade per decade, il numero dei casi di febbri malariche verificatisi nei singoli comuni del circondario stesso.

Pel circondario di Roma però sono stato costretto a lasciar fuori Roma città, giacchè, dato il grande numero di medici in essa esercenti, non è stato possibile avere, per un così lungo periodo di tempo, delle

---

[1] *Le febbri malariche nella provincia di Roma nel secondo semestre 1888.* Bullettino della R. Acc. Med. di Roma, 1889.

cifre attendibili sui vari casi da ognuno di essi mensilmente osservati. Ciò del resto non ha grande importanza, potendosi vedere dalle schede dei malati che entrano giornalmente nei nostri ospedali, quanto pochi provengano dalla nostra città. Su questo movimento poi degli ospedali di Roma ho fatto delle ricerche speciali, come si vedrà in seguito.

Se nulla si oppone allo studio complessivo della malaria per tutto un circondario od anche per tutta la provincia, qualche difficoltà potrebbe sorgere quando i casi di questa malattia, osservati in un territorio così esteso, si debbano mettere in rapporto colla quantità di pioggia caduta. Di quale pioggia si dovrebbe tener conto? A nessuno certo può venire in mente che la pioggia caduta in Roma possa far sentire i suoi effetti, per esempio, a San Felice Circeo o ad Acquapendente: è perciò evidente la necessità di non contentarsi di annotare la quantità di pioggia caduta in un solo punto; ma, circondario per circondario, prendere la media della pioggia notata dai vari osservatorî meteorici e stazioni udometriche in ognuno di essi esistenti. Credo qui poi opportuno il notare che la pioggia, quantunque sia per se stessa un fenomeno localistico, non lo è generalmente in confini molto limitati; e dallo studio fatto sui Bullettini di quest'ultimo decennio risulta che, tranne dei semplici acquazzoni, quasi mai è avvenuta una pioggia di qualche rilievo in un circondario senza che, in proporzioni maggiori o minori, sia stata osservata anche negli altri circondari.

Dando uno sguardo generale a tutte le tabelle annesse (IX-XIII), e specialmente a quella del movimento dei malarici nell'ospedale di Santo Spirito (XV), la prima cosa che apparisce è la grande regolarità colla quale ovunque procede il modo di portarsi di questa malattia. Essa ci si manifesta per ogni dove come una malattia permanente durante tutto l'anno; però, tenendo conto dell'intensità di sviluppo, presenta due periodi nettamente distinti, e cioè un periodo endemico, nel quale si verificano solo pochi casi e di malaria mite, ed un periodo epidemico, nel quale la forma della malattia è grave ed il numero dei casi rilevantissimo. L'inizio del periodo epidemico si avvera bruscamente e quasi, si può dire, nello stesso giorno. Tra la prima e la seconda decade di luglio, ad un tratto, senza che oscillazioni antecedenti ne abbiano dato alcun indizio, il numero dei casi si moltiplica enormemente e rimane lungamente elevato. Anche il Boudin, durante l'occupazione francese di Roma, aveva già osservato lo stesso fatto.

Quale è il fattore che può darci una spiegazione soddisfacente di un fenomeno così altamente caratteristico? Evidentemente, trattandosi di un effetto che si riproduce costantemente e sempre nella stessa epoca, nello studio delle cause produttrici bisognerà tener conto solo di quelle

che presentano gli stessi requisiti, e che cioè sviluppano la loro azione in un periodo più o meno vicino a quello nel quale si ha l'inizio del periodo epidemico. Posta in tal modo la questione, è molto facile escludere subito tutti i fattori climatologici, come temperatura, pioggie, venti... — Difatti, quale di tali agenti è tanto costante e si manifesta, nel tempo, con tanta regolarità da poter produrre costantemente lo stesso fenomeno fra la 1ª e la 2ª decade di luglio? È evidente che tra questi elementi non si può trovare alcun rapporto di causa ad effetto e che la causa di un tale fatto dobbiamo ricercarla altrove. Una delle spiegazioni più ovvie e che con più facilità ci si presenta alla mente ci potrebbe essere data dai lavori campestri, i quali difatti costituiscono un fattore che si ripete regolarmente ogni anno e nello stesso periodo. Osserviamo ciò che avviene nei dintorni di Roma per vedere se l'aumento dei malarici nell'ospedale di Santo Spirito possa esser messo in rapporto coi lavori della campagna romana. I più importanti di questi lavori si avverano in epoche ben definite: tralasciando la semina, che si verifica alla fine dell'autunno, ed i lavori della trebbiatura, che hanno luogo quando già il periodo epidemico è al suo acme, una grandissima importanza potrebbe essere attribuita ai lavori di falciatura e di mietitura che vengono eseguiti nei mesi di maggio e giugno. La popolazione dell'Agro romano, che normalmente si aggira intorno ai 9000 abitanti, arriva, durante questi lavori, a sorpassare i 32,000; e perciò il numero delle persone esposte a prendersi le febbri viene più che triplicato. Finito il mese di giugno e terminata la falciatura da lungo tempo e la mietitura da pochi giorni, si sviluppa il periodo epidemico. È sufficiente questo rapporto di tempo a farci ammettere un rapporto di causa? Può ammettersi che lo sviluppo, sempre nella stessa epoca, di questa epidemia, sia causato dal fatto che proprio in quell'epoca la campagna romana è popolata di lavoratori? Certo che il numero maggiore di lavoratori può influire sulla quantità dei malati; ma perchè aspettare proprio ad ammalarsi dopo la prima decade di luglio? I lavori della falciatura incominciano nel maggio, e, data un'incubazione media di 10 giorni, perchè il periodo epidemico non comincia alla fine di questo mese o al principio di giugno? A dare però un po' di verosimiglianza alla cosa si potrebbe obbiettare che i lavori della falciatura durano solo pochi giorni e che la maggior parte dei contadini che qui affluiscono per questo scopo tornano subito dopo ai loro paesi e non possono perciò esser causa di alcun aumento nel numero di malati dell'ospedale di Santo Spirito. Ma questo fatto non si verifica in tutti i comuni, e ciononostante in nessuno dei circondari della provincia il periodo epidemico incomincia nel mese di giugno; chè anzi di tutti i mesi dell'anno è forse questo il mese che ci dà il numero minimo di casi di febbri malariche.

Ed oltre a ciò, se l'aumentato numero delle persone che si trovano nell' Agro romano esposte alle febbri fosse la causa dell'aumento di queste, perchè tale aumento non dovrebbe cessare nel mese di settembre, nel quale nella campagna trovasi appena un terzo delle persone che vi si trovavano nel mese di giugno? Ad escludere poi assolutamente il fatto che l' inizio del periodo epidemico della malaria stia in rapporto coi lavori campestri, basta ricordare ciò che si è già dinnanzi osservato, e cioè che anche le truppe francesi, le quali certo non erano in Roma per attendere all' agricoltura, incominciavano anch' esse nello stesso periodo ad esser maggiormente travagliate da questa malattia. Quale è dunque la causa dell' insorgere di questa epidemia a scadenza fissa, come se si trattasse di un tributo che annualmente il nostro paese deve pagare alla dea Febbre? Speriamo che la recente teoria parassitaria ed il ciclo di vita delle Anopheles possano fare un po' di luce su questo argomento.

Iniziatosi in questo modo il periodo epidemico, il numero dei casi si mantiene elevatissimo durante tutti i mesi di agosto e settembre, nei quali generalmente se ne ha il massimo. Quindi la curva incomincia leggermente a discendere per cessare quasi e dare origine al periodo endemico tra la fine di dicembre ed i primi del mese di gennaio.

Oltre allo studio delle cause per le quali il periodo epidemico si sviluppa bruscamente, e sempre nella stessa epoca, un' altra questione importantissima è quella dei rapporti esistenti fra questo periodo epidemico e le pioggie primaverili. Esaminando attentamente la tabella IX, troviamo che la minima quantità di pioggia caduta nei mesi di marzo, aprile e maggio si è verificata nell' anno 1893; ed in questo caso, ciò che è avvenuto nel circondario di Roma sembrerebbe confermare la regola che potrebbe trarsi dalle osservazioni del Tacchini,[1] secondo la quale l' intensità della malaria estivo-autunnale starebbe in proporzione diretta colla quantità di pioggia caduta nella primavera.

Difatti, in tutto il decennio, questo è stato l' anno nel quale la curva malarica si è mantenuta più bassa. Lo stesso fatto però non si verifica negli altri circondari, nei quali, quantunque le pioggie primaverili siano cadute nelle stesse minime proporzioni, la quantità di febbri malariche sviluppatesi nell' estate non è punto, nel 1893, inferiore a quella di alcuni anni successivi, nei quali le pioggie cadute in primavera sono state molto abbondanti.

Nel movimento dei malarici verificatosi nell' ospedale di S. Spirito

---

[1] *Le febbri malariche e le meteore della provincia di Roma. Annali di Agricoltura,* 1884.

(Tab. XV) non abbiamo neppure alcun appoggio per ammettere che la mitezza dell'epidemia malarica del 1893 sia in qualche dipendenza colle scarse pioggie cadute nella primavera. Abbiamo difatti che, sebbene nel detto anno la curva malarica si sia mantenuta abbastanza bassa, non lo è stata però meno che nel 1892-1897, nei quali anni invece si sono avute pioggie primaverili molto più abbondanti. Un'altra osservazione da fare sulla tabella XV è che gli anni nei quali l'epidemia malarica è stata massima sono il 1894 e 1895; ora pel 1895 i rapporti suddetti sembrerebbero avere una conferma, essendosi nella primavera di questo anno avuto un numero di giornate piovose superiore a quello degli altri anni. Nel 1894 invece, nel quale la curva malarica è stata la maggiore di tutto il settennio, le pioggie primaverili non sono state punto superiori a quelle p. es. del 1892-1897, nei quali anni la detta curva è stata bassissima.

Se tuttavia il numero dei casi delle febbri malariche estivo-autunnali non si mostra in alcun rapporto colle pioggie primaverili, qualche rapporto può credersi che esista fra queste pioggie e il modo di decorrere del periodo epidemico. Ritorniamo all'anno 1893. Se osserviamo la tabella XV vediamo che, di tutto il settennio, l'anno 1893 è l'unico nel quale il massimo dei casi invece che nei mesi di agosto-settembre, si è verificato nei mesi di ottobre-novembre; vi è stato cioè un sensibilissimo ritardo, non nell'inizio, ma nel sollevamento della curva. Un fenomeno consimile si osserva anche, e con molta chiarezza, nel circondario di Velletri (Tab. XIII), dove, oltre ad aversi il massimo nel mese di ottobre, si è spostato anche l'inizio del periodo epidemico, il quale, invece che nella prima decade di luglio, ha avuto luogo nell'ultima decade di settembre.

Oltre ai rapporti fra le pioggie primaverili e la malaria estivo-autunnale si sono sempre ammessi altri rapporti molto diretti e costanti fra lo sviluppo della malaria e le pioggie che si verificano dalla metà del mese di agosto alla metà di settembre. Dallo studio di tutte le tabelle dei circondari della Provincia non si ricava nulla in favore di questa teoria, alla quale neanche il movimento giornaliero dei malarici nell'ospedale di S. Spirito dà il minimo appoggio.

Il caso più tipico l'abbiamo nell'anno 1894 (v. Tab. XV), nel quale, dopo un estate straordinariamente asciutta, si sono avute delle leggerissime pioggie nei giorni 6 e 10 settembre. Orbene, dopo queste pioggie, e proprio nei giorni nei quali terminerebbe il periodo d'incubazione, il numero dei malarici entrati nell'ospedale ha raggiunto la cifra più bassa che si sia osservata dalla metà di luglio ai primi del mese di ottobre! Sopravvengono nuove pioggie nei giorni 16 e 17, e la malaria continua indisturbata in un comportamento perfettamente uguale a quello del-

l'anno successivo, nel quale nessuna pioggia ha avuto luogo nel decorso dello stesso mese.

Da che cosa dunque dipende l'opinione così comune della grande influenza che tali pioggie hanno sullo sviluppo della malaria? Ad una tale domanda credo che si possa trovare una risposta soddisfacente se si pensa che non si possedevano fino ad ora delle statistiche, riguardanti un lungo periodo, nelle quali si fosse fatta una distinzione fra i casi primitivi di febbri malariche e quelli recidivi. Pei casi primitivi, ai quali esclusivamente si riferisce la tabella XV, mi pare facile escludere il rapporto suddetto: non potrebbe però esso esistere pei recidivi? Ciò è molto probabile, tanto più che l'aumento dei malarici che dicesi abbia luogo dopo le pioggie di agosto-settembre, si verificherebbe quasi subito dopo di esse; il che, trattandosi di recidivi, non sarebbe in opposizione colla durata del periodo di incubazione.

Rimane ora un' ultima questione da trattare: si è detto nel principio di queste ricerche, che l'andamento annuo delle febbri malariche si può dividere in due periodi; l'uno endemico che incomincia nel gennaio e dura sino alla prima decade di luglio, e l'altro epidemico che va dalla prima decade di luglio fino al mese di gennaio. Tutte le osservazioni fatte finora riguardano soltanto il periodo epidemico, e dell' endemico si è detto solo che si manifesta in una forma mite e limitata a pochi casi. In qual modo però si verificano questi casi? Si verificano essi regolarmente durante tutta l' endemia, o in forma saltuaria, oppure seguono qualche legge? Dal semplice esame delle tabelle, e specialmente da quella dell' ospedale di S. Spirito, risulta evidente che dal gennaio fino alla prima decade di luglio, cioè durante tutto il periodo endemico, la malaria presenta un percorso regolarissimo, il numero dei casi è limitato e non si verificano oscillazioni di sorta.

Non mi pare dunque possibile ammettere, come si è fatto fino ad ora, un altro periodo epidemico che dovrebbe aver luogo nei mesi di marzo, aprile e maggio, e che perciò era detto dell' epidemia primaverile. Un leggiero aumento del numero dei casi, in special modo nei mesi di aprile e maggio, si verifica realmente; esso però è tanto poco sensibile che non mi pare sufficiente a costituire un nuovo periodo.

Riassumendo dunque tutto ciò che si è detto fino ad ora, possiamo ritenere:

1° che la malaria nella provincia di Roma, è una malattia la quale, quantunque presente tutto l'anno, può nondimeno dividersi in due periodi nettamente distinti, e cioè: un periodo endemico dal gennaio alla prima decade di luglio, ed uno epidemico dalla prima decade di luglio a tutto il mese di dicembre;

2° che nel periodo endemico la malaria è mite, limitata a pochi casi e con un percorso regolarissimo;

3° che non si osserva, o è appena accennata, un' epidemia primaverile;

4° che il periodo epidemico incomincia sempre subito dopo la prima decade di luglio; il che non può mettersi in rapporto nè con fenomeni climatologici, nè con altri fattori finora conosciuti;

5° che neppure la maggiore o minore gravità dell' epidemia malarica può essere cogli stessi fattori messa in rapporto;

6° che le pioggie che si verificano fra l' agosto e il settembre non hanno alcuna influenza sullo sviluppo delle febbri primitive, potendo al più averne solo su quelle recidive.

(Segue il riassunto statistico).

RIASSUNTO STATISTICO

dei casi di febbri malariche primitive manifestatisi nei singoli Comuni della provincia di Roma nel novennio 1889-1897 e messi in rapporto con la popolazione.

Circondario di ROMA.

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
1	Affile.	0. 30
2	Agosta	4. 90
3	Albano Laziale.	1. 56
4	Anguillara Sabazia	8. 91
5	Anticoli Corrado	2. 39
6	Anzio	3. 61
7	Arcinazzo Romano	0. 34
8	Ariccia	0. 65
9	Arsoli	2. 38
10	Bellegra.	0. 43
11	Bracciano	1. 39
12	Camerata Nuova	4. 36
13	Campagnano di Roma	1. 45
14	Canale Monterano.	3. 53
15	Canterano	1. 82

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
16	Capranica Prenestina	0. 92
17	Casape	3. 98
18	Castel Gandolfo	0. 69
19	Castel Madama	3. 97
20	Castelnuovo di Porto.	1. 47
21	Castel S. Pietro Romano	2. 42
22	Cave.	2. 92
23	Cerreto Laziale	0. 15
24	Cervara di Roma.	1. 25
25	Ciciliano	0. 95
26	Cineto Romano	0. 57
27	Civita Lavinia.	5. 48
28	Civitella S. Paolo.	0. 53
29	Colonna	7. 57
30	Fiano Romano.	4. 08
31	Filacciano	3. 22
32	Formello	4. 22
33	Frascati.	0. 27
34	Gallicano nel Lazio	4. 61
35	Genazzano	0. 74

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
36	Genzano di Roma	0. 54
37	Gerano	2. 04
38	Grottaferrata	2. 17
39	Jenne	3. 38
40	Leprignano	14. 30
41	Licenza	5. 44
42	Mandela	4. 98
43	Manziana	1. 80
44	Marano-Equo	2. 70
45	Marino	3. 18
46	Mazzano Romano	2. 30
47	Mentana	5. 94
48	Montecelio	4. 84
49	Monte Compatri	0. 17
50	Monte Flavio	1. 61
51	Monte Libretti	2. 93
52	Monte Porzio Catone	1. 16
53	Monterosi	2. 56
54	Monterotondo	0. 44
55	Montorio Romano	0. 81

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
56	Moricone	3. 94
57	Morlupo	4. 60
58	Nazzano	2. 57
59	Nemi	0. 26
60	Nerola	2. 90
61	Nettuno	3. 94
62	Olevano Romano	0. 32
63	Oriolo Romano	0. 93
64	Palestrina	0. 22
65	Palombara Sabina	1. 43
66	Percile	1. 37
67	Pisoniano	2. 01
68	Poli	0. 95
69	Ponzano Romano	5. 65
70	Riano	4. 43
71	Rignano Flaminio	0. 53
72	Riofreddo	0. 03
73	Rocca Canterano	3. 84
74	Rocca di Papa	0. 12
75	Roccagiovane	9. 14

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
76	Rocca Priora	0. 34
77	Rocca Santo Stefano.	1. 22
78	Roiate	0. 31
79	Roma Città	V. pag. 002
79*a*	Roma - Suburbio e zona di bonifica dell' Agro romano:	
	a destra del Tevere	17. 00
	a sinistra »	19. 00
79*b*	Romano - Agro (Per l' Agro romano è impossibile dare una cifra esatta; giacchè la sua popolazione varia, nelle diverse epoche dell' anno, da 9000 a 32,000. Da calcoli approssimativi si può ritenere che la percentuale oscilli intorno a	20,00-40,00
80	Roviano.	1. 69
81	Sambuci.	2. 76
82	S. Angelo Romano	3. 37
83	S. Gregorio da Sassola	0. 75
84	S. Oreste	1. 23
85	S. Polo de' Cavalieri	0. 04
86	S. Vito Romano	0. 65
87	Saracinesco.	4. 08
88	Scrofano.	2. 27
89	Subiaco	0. 01

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
90	Tivoli	0. 25
91	Torrita Tiberina	3. 60
92	Trevignano Romano	2. 61
93	Valle Pietra	0. 01
94	Vailinfreda	0. 84
95	Vicovaro	0. 86
96	Vivaro Romano	1. 78
97	Zagarolo	1. 17
	TUTTO IL CIRCONDARIO . . .	2. 05

Circondario di CIVITAVECCHIA.

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
1	Allumiere	1. 81
2	Cerveteri	10. 40
3	Civitavecchia	3. 56
4	Corneto Tarquinia	3. 53
5	Montalto di Castro	31. 05
6	Monte Romano	8. 33
7	Tolfa.	3. 46
	TUTTO IL CIRCONDARIO . . .	4. 85

Circondario di FROSINONE.

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
1	Acuto	1. 60
2	Alatri	1. 16
3	Amaseno	8. 01
4	Anagni	2. 08
5	Anticoli di Campagna	0. 01
6	Arnara	1. 54
7	Bauco	0. 44
8	Castro de' Volsci	1. 82
9	Ceccano	3. 28
10	Ceprano	2. 41
11	Collepardo	1. 11
12	Falvaterra	4. 61
13	Ferentino	0. 49
14	Filettino	5. 03
15	Frosinone	0. 16
16	Fumone	0. 98
17	Giuliano di Roma	5. 27

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889 1897 per ogni 100 abitanti
18	Guarcino	1. 97
19	Maenza	3. 11
20	Monte S. Giovanni Campano	2. 32
21	Morolo	1. 51
22	Paliano	1. 72
23	Patrica	3. 16
24	Piglio	1. 66
25	Piperno	4. 14
26	Pofi	4. 54
27	Prossedi	3. 38
28	Ripi	1. 21
29	Roccagorga	10. 77
30	Roccasecca de' Volsci	9. 20
31	Serrone	0. 27
32	Sgurgola	3. 73
33	Sonnino	9. 35
34	Strangolagalli	0. 20
35	Supino	1. 37
36	Torre Cajetani	1. 26
37	Torrice	0. 57

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
38	Trevi nel Lazio	3. 67
39	Trivigliano	2. 42
40	Vallecorsa	1. 61
41	Veroli	2. 54
42	Vico nel Lazio	19. 42
43	Villa S. Stefano	3. 20
	TUTTO IL CIRCONDARIO . . .	2. 45

Circondario di VELLETRI.

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
1	Artena	1. 70
2	Bassiano	17. 56
3	Carpineto Romano	1. 80
4	Cisterna di Roma	47. 62
5	Cori	1. 71
6	Gavignano	3. 96
7	Gorga	1. 80
8	Labico	4. 26
9	Montelanico	1. 86
10	Norma	13. 00
11	Roccamassima	4. 66
12	S. Felice Circeo	7. 31
13	Segni	1. 13
14	Sermoneta	84. 45
15	Sezze	18. 38
16	Terracina	7. 67
17	Valmontone	1. 74
18	Velletri	1. 89
	TUTTO IL CIRCONDARIO	7. 57

Circondario di VITERBO.

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anvi 1889-1897 per ogni 100 abitanti
1	Acquapendente	2. 64
2	Artena di Castro	12. 30
3	Bagnaia	1. 90
4	Bagnorea	0. 62
5	Barbarano Romano	5. 83
6	Bassanello	0. 59
7	Bassano di Sutri	0. 63
8	Bassano in Teverina	1. 08
9	Bieda	8. 50
10	Bolsena	1. 52
11	Bomarzo	0. 05
12	Calcata	4. 63
13	Canepina	0. 55
14	Canino	3. 27
15	Capodimonte	4. 74
16	Capranica di Sutri	0. 73
17	Caprarola	1. 83

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
18	Carbognano	0. 64
19	Castel Cellesi	2. 96
20	Castel Sant' Elia	3. 03
21	Castiglione in Teverina	1. 76
22	Celleno	2. 45
23	Cellere	8. 49
24	Civita Castellana	6. 10
25	Civitella d' Agliano	2. 49
26	Corchiano	2. 18
27	Fabbrica di Roma	0. 91
28	Faleria	2. 00
29	Farnese	3. 11
30	Gallese	6. 77
31	Gradoli	7. 38
32	Graffignano	5. 80
33	Grotte di Castro	1. 67
34	Grotte S. Stefano	0. 92
35	Ischia di Castro	8. 81
36	Latera	4. 89
37	Lubriano	0. 16

Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
38	Marta	8. 48
39	Montefiascone	10. 56
40	Nepi	1. 90
41	Onano	2. 09
42	Orte	1. 17
43	Piansano	6. 62
44	Proceno	5. 07
45	Roccalvecce	3. 14
46	Ronciglione	1. 19
47	S. Giovanni di Bieda	7. 30
48	S. Lorenzo Nuovo	3. 03
49	S. Martino al Cimino	0. 21
50	S. Michele in Teverina	0. 38
51	Soriano nel Cimino	0. 87
52	Sutri	0. 71
53	Tessenano	8. 45
54	Toscanella	1. 58
55	Valentano	3. 01
56	Vallerano	2. 02
57	Vejano	4. 47

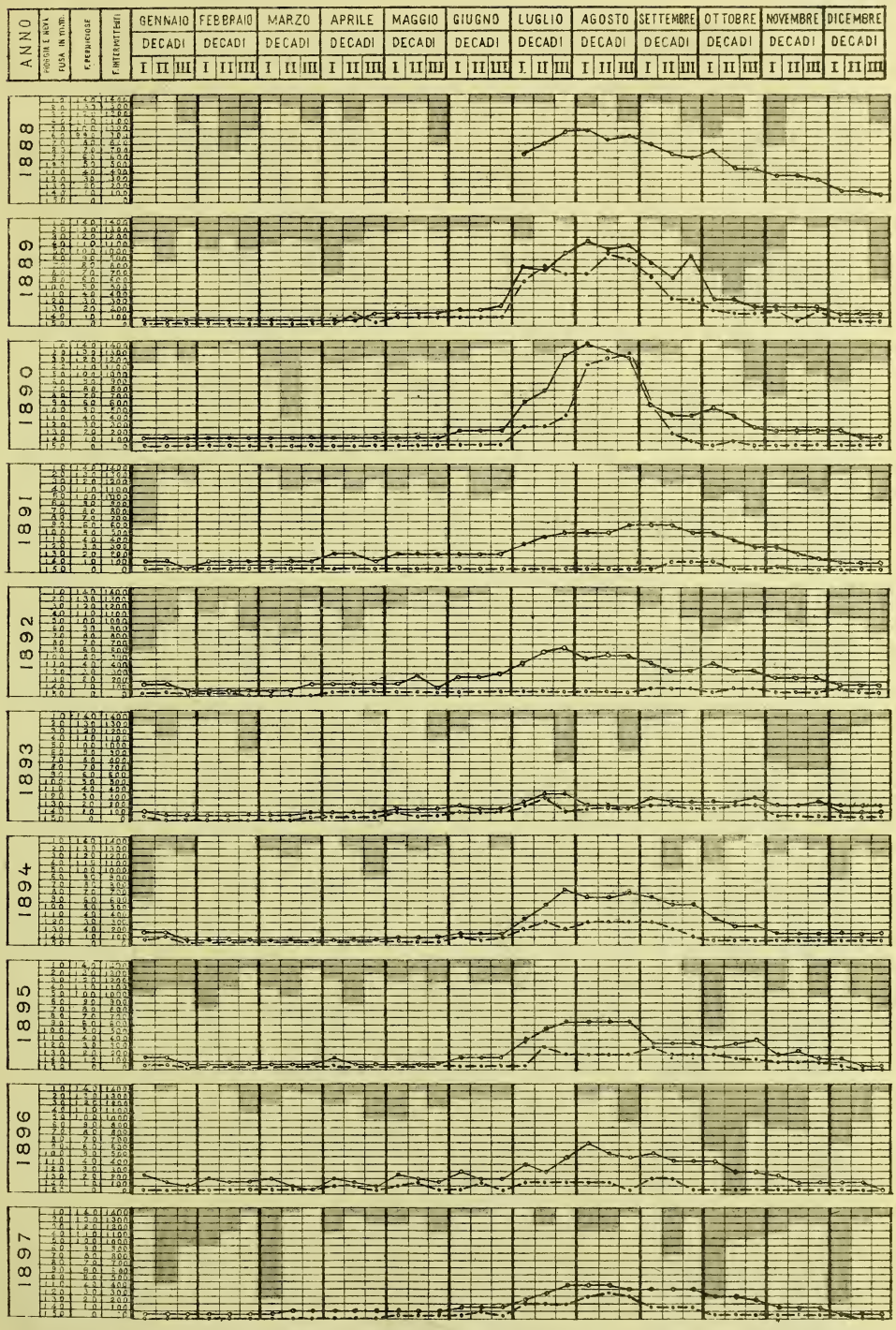
Numero d' ordine	COMUNI	Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
58	Vetralla	8. 08
59	Vignanello	1. 20
60	Viterbo	0. 47
61	Vitorchiano.	0. 84
	TUTTO IL CIRCONDARIO . . .	2. 07

RIEPILOGO.

Numero d' ordine	CIRCONDARI			Numero dei casi di febbri malariche primitive verificatisi negli anni 1889-1897 per ogni 100 abitanti
1	CIRCONDARIO DI ROMA	Comuni	97	2. 05
2	» DI CIVITAVECCHIA . .	»	7	4. 85
3	» DI FROSINONE. . . .	»	43	2. 45
4	» DI VELLETRI	»	18	7. 57
5	» DI VITERBO	»	61	2. 07
	TUTTA LA PROVINCIA:	Comuni	226	2. 82

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE

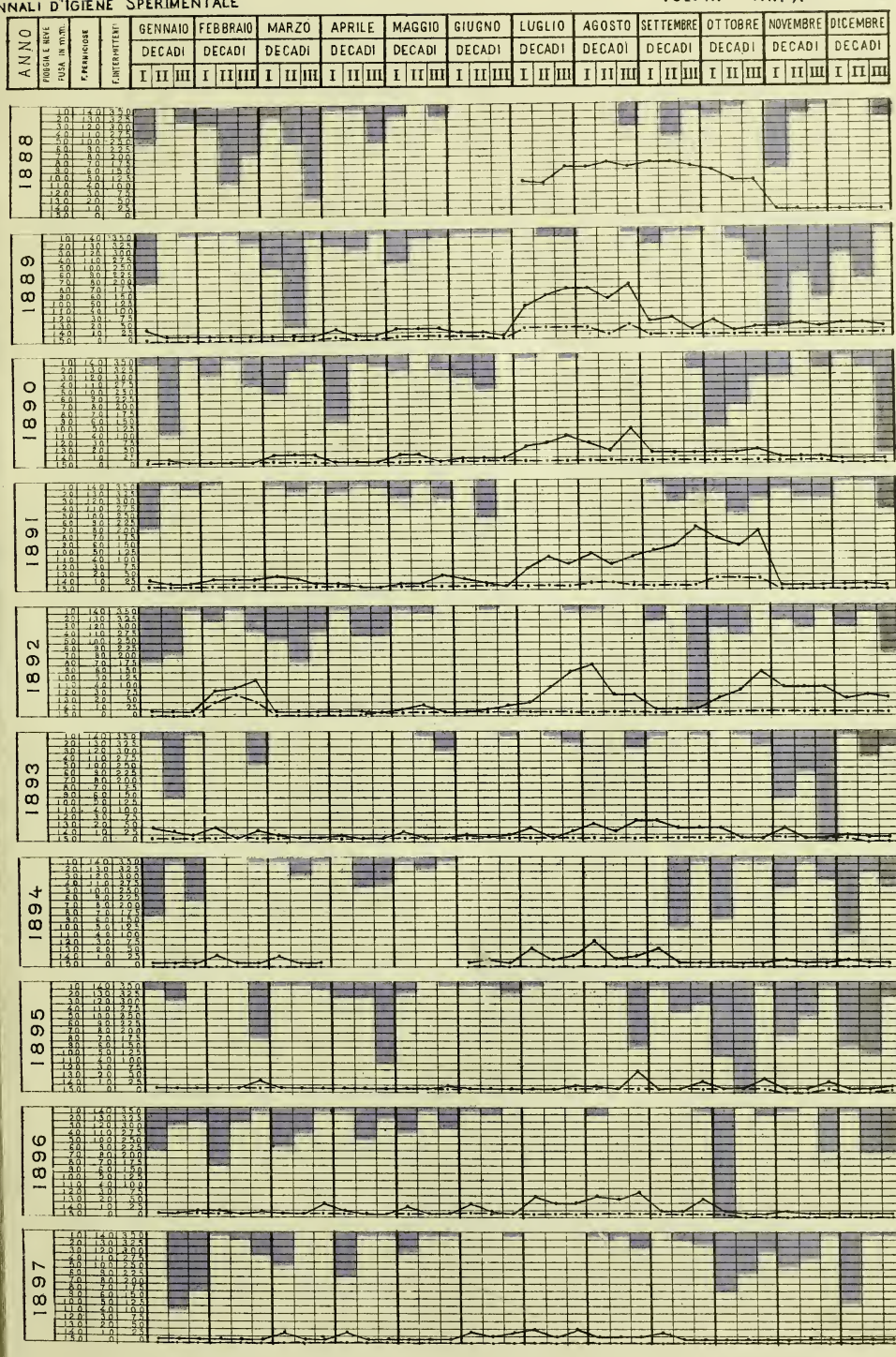
CIRCONDARIO DI ROMA

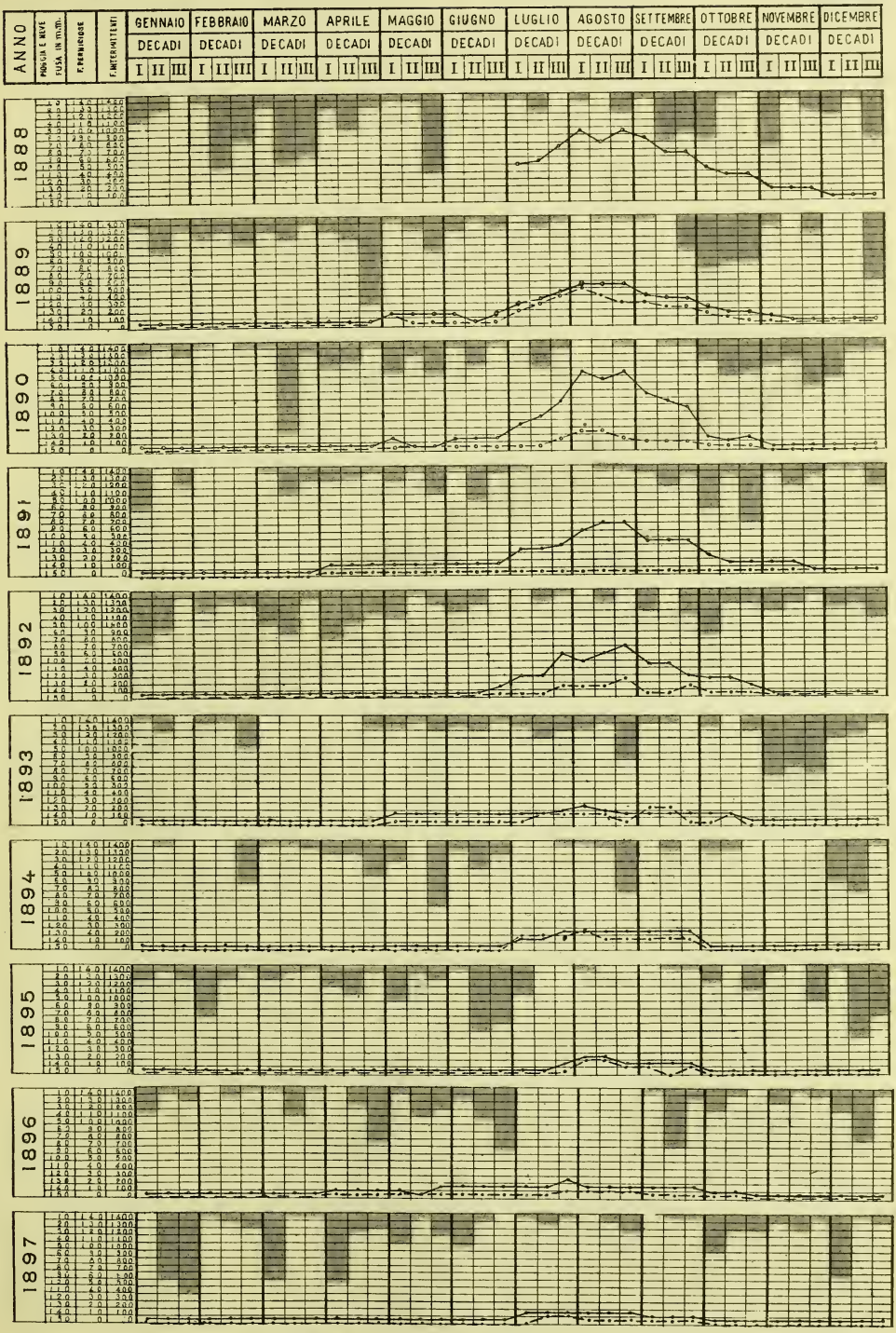


PIOGGIA E NEVE FUSA IN m.m. FEBBRI INTERMITTENTI ——— FEBBRI PERNICIOSE —·—·—

E. BATTISTI LIT - ROMA

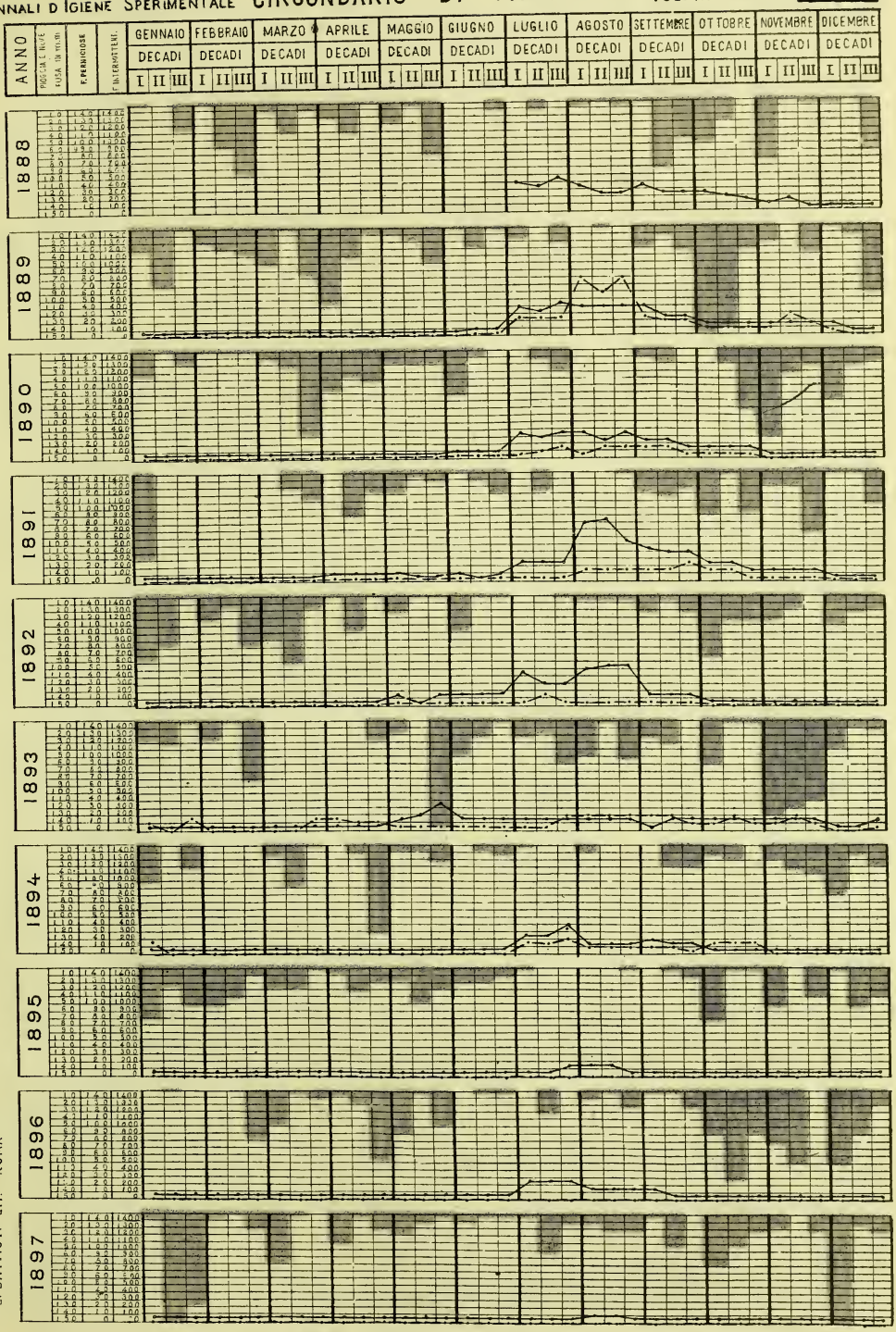
CIRCONDARIO DI CIVITAVECCHIA





PIOGGIA E NEVE FUSA IN m.m. FEBBRI INTERMITTENTI ——— FEBBRI PERNICIOSE —.—.—

E. BATTISTI LIT. - ROMA



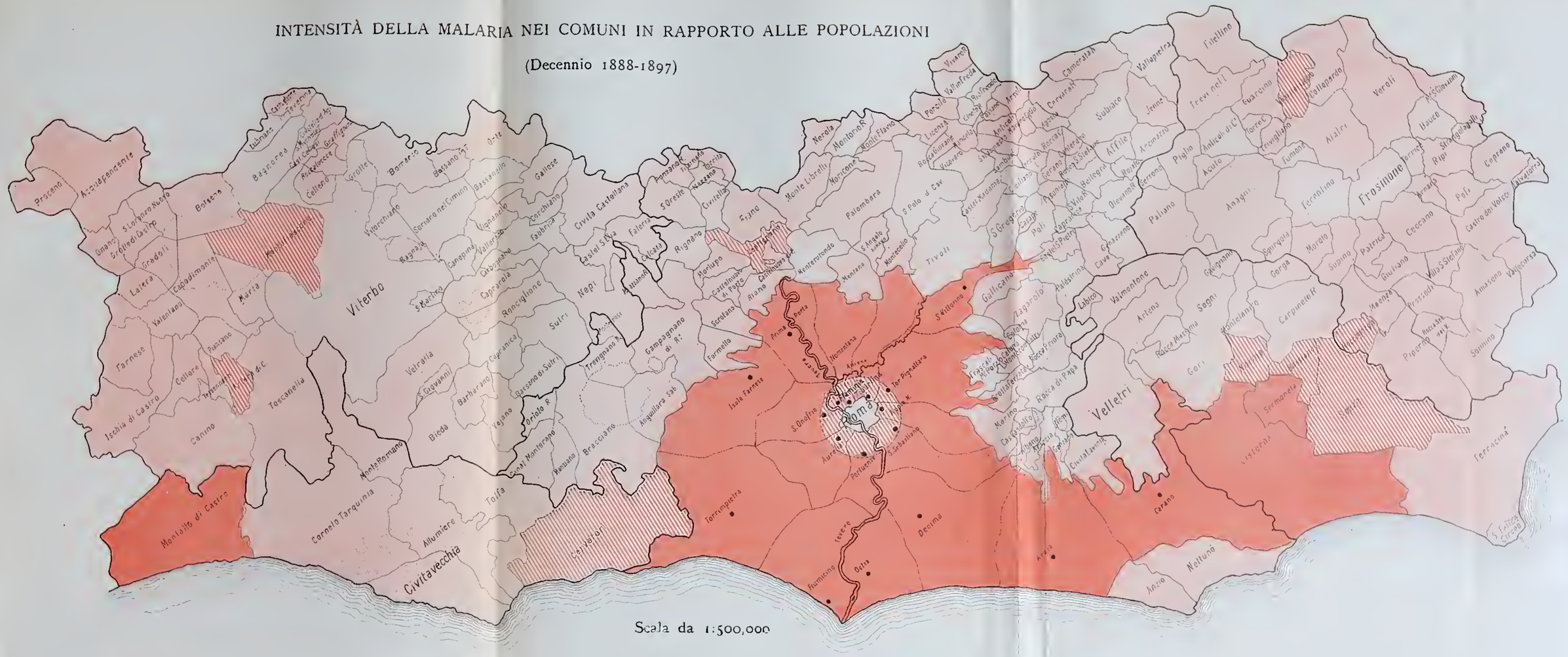
PIOGGIA E NEVE FUSA IN m.m. FEBBRI INTERMITTENTI ——— FEBBRI PERNICIOSE —·—·—

E. BATTISTI LIT. - ROMA

Provincia di Roma

INTENSITÀ DELLA MALARIA NEI COMUNI IN RAPPORTO ALLE POPOLAZIONI

(Decennio 1888-1897)



(da 0. a 1. compreso) CASI ANNUI DI FEBBRI MALARICHE OGNI 100 ABITANTI

(» 1,1 » 10 ») » » » » » » »

(» 10,1 » 20 ») » » » » » » »

(» 20,1 » in poi) » » » » » » »

CONFINI DEI LAGHI

» DELLE STAZIONI SANITARIE DEL COMUNE DI ROMA

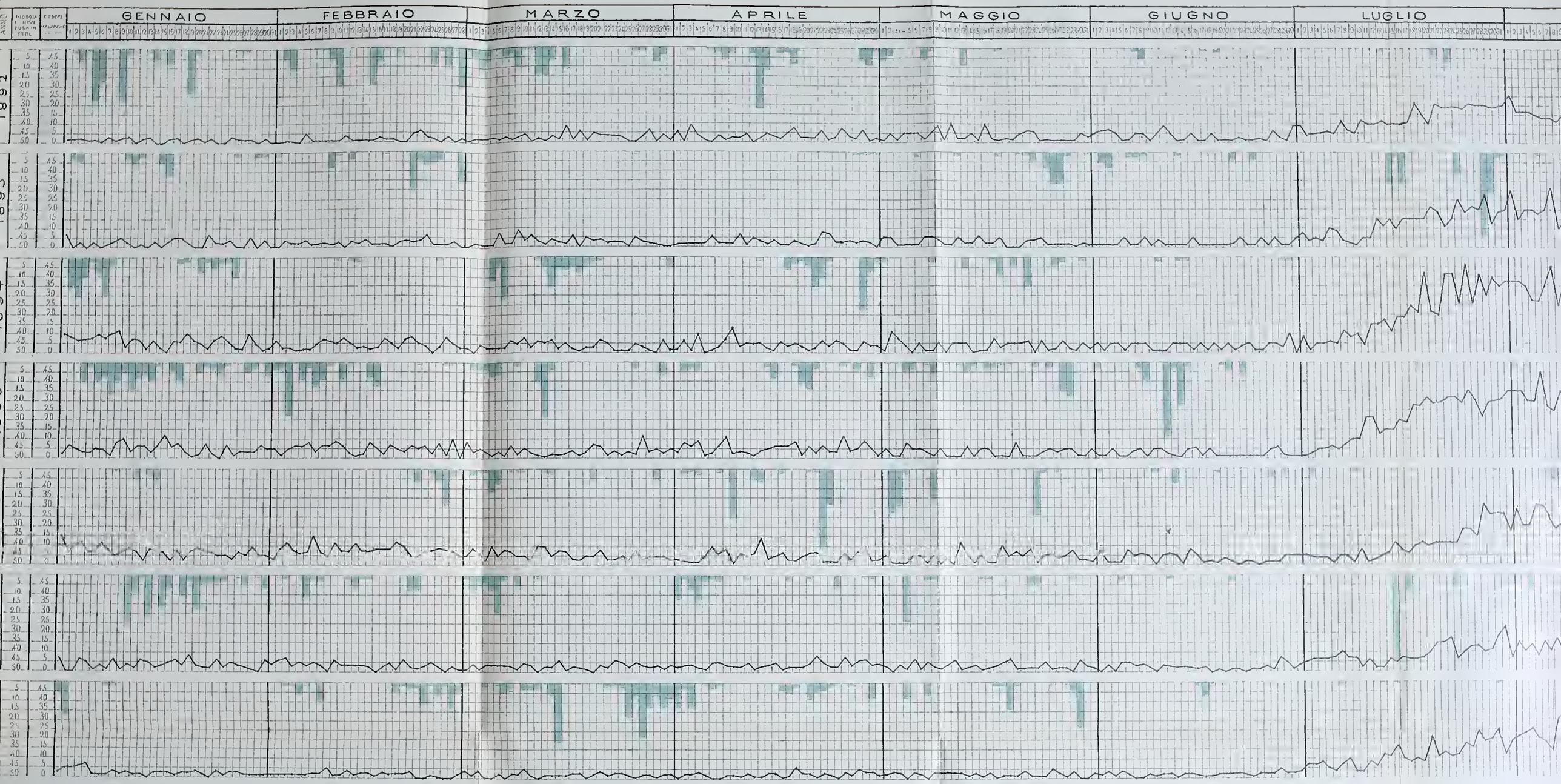
» DEI COMUNI

» DEI CIRCONDARI

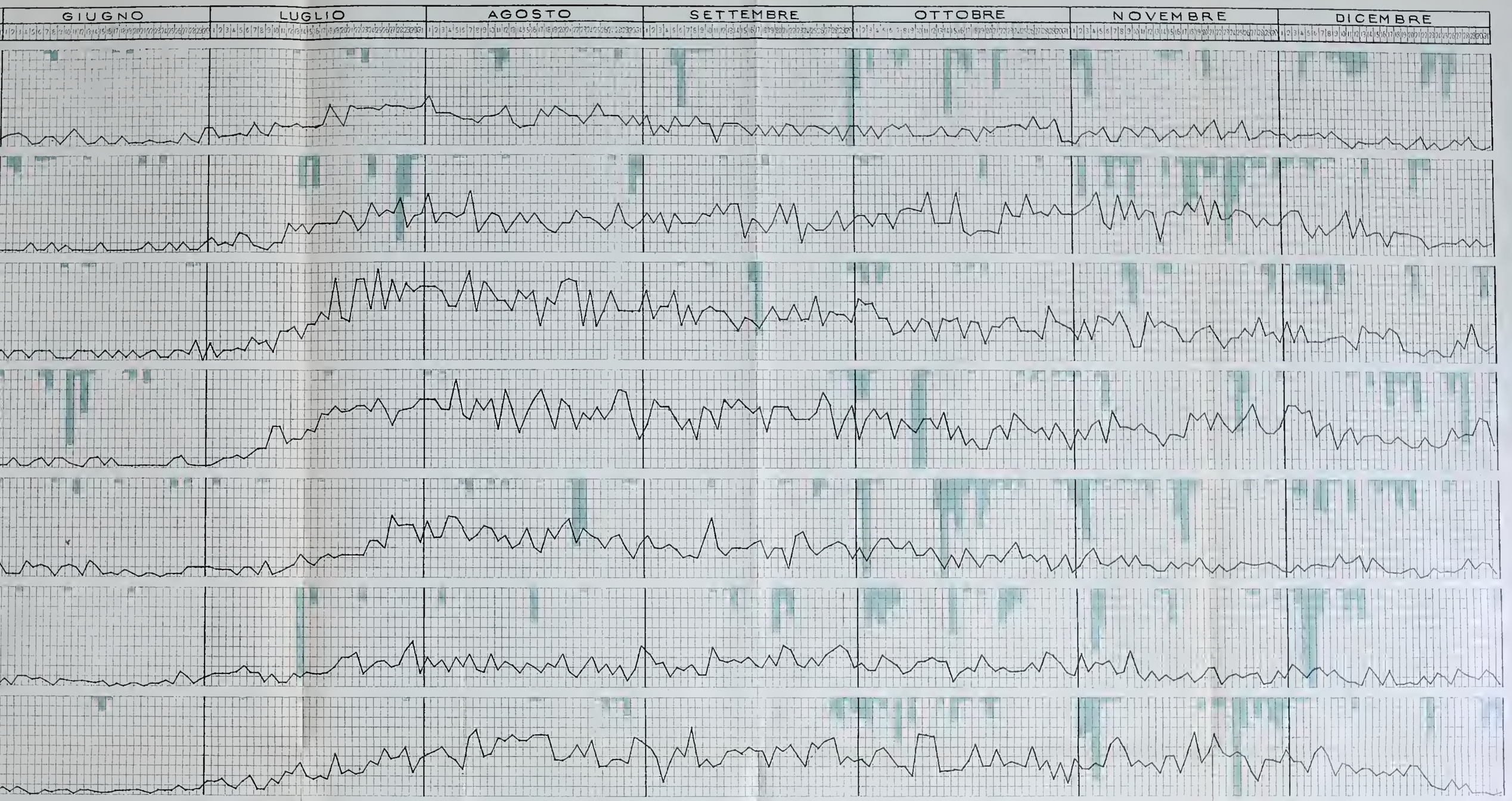
» DELLA ZONA DI BONIFICA DELL'AGRO ROMANO

E. BATTISTI LIT. ROMA.

Movimento dei malarici nell'Ospedale di S. Spirito negli anni 1



ALARICI NELL'OSPEDALE DI S.SPIRITO NEGLI ANNI 1892-1898



FEBBRI MALARICHE PRIMITIVE

E. Battisti lit. Roma.